日本水産学会誌

第二十一巻 第十號

Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries

Vol. 21, No. 10, 1956

目　次

昭和三十一年
日本水産学会
The Japanese Society of Scientific Fisheries
TOKYO

CONTENTS

All communications and publications should be addressed to :
Japanese Society of Scientific Fisheries c/o Tokaiku Suisan Kenkyujo Tsukishima, Kyobashi, Tokyo, Japan.

On the Prediction of Fishery Based on the Variation of Stock—II.

Tasae KAWAKAMI
(Dept. of Fisheries, Kyoto Univ., Maizuru)

Under the following assumptions

(1) that the survival rate, ρ, of a stock of fish is constant throughout all age groups and all period in question,

(2) that the apparent number of annual hatch is proportional to the magnitude of spawning shoal and denote the number of hatch per individual of matured fish by ζ,

(3) that the fishes composing the stock do not mature entirely until the age y^* and the rate of maturity of fishes of age (y^*+i) can be represented by $(1-\gamma^i)$, and

(4) that the rate of fishing is constant,

the present author[1] deduced a relation between the amounts of catches, C_t, at the year t as follows:

$$C_{t+1}=aC_t+bC_{t-1}+cC_{t-y^*},$$

where

$$a=(1+\gamma)\rho,\quad b=-\rho^2\gamma,\quad c=(1-\gamma)\rho^{y^*+1}\zeta.$$

This equation is available for the prediction of catch in the year $t+1$ by using the catches in the years t, $t-1$ and $t-y^*$.

By the analysis of actual data of age composition of catch for the case of spring herring in Hokkaidô, the author has estimated the numerical values of these constants as

$$\gamma=0.6,\quad \rho=0.58,\quad \zeta=4.0,$$

which give

$$a=0.96,\quad b=-0.22,\quad c=0.156.$$

On the contrary if these constants a, b and c can be evaluated by using the actual data of catces, we have a gleam of hope that the characteristic constants of the stock of fish, γ, ρ and ζ can be estimated from the actual data of catches. The determination of these constants by the method of least squares is as follows

	The former period 1910—1930	The later period 1931—1948	Whole period 1910—1948
a	1.04	1.18	1.11
b	−0.40	−0.28	−0.38
c	0.30	−0.005	0.21

From this table, it may be concluded that the values of b and c are very unstable and as for c, its numerical value is entirely unreliable, while the value of a is relatively stable.

From these equations the survival rate is given by

Received August 1, 1955.

$$\rho=\frac{a+\sqrt{a^2-4b}}{2}.$$

The result of computation shows that the value of ρ takes a complex number except for the later period. This contradiction may be due to the instability of the value of b.

In order to compare the degree of coincidence with that obtained by the former methods, the value

$$v=\left[\frac{1}{n}\sum(\hat{C}_t-C_t)^2\right]^{\frac{1}{2}}$$

$\hat{C}_t$ being the predicted value of the actual catch C_t, is calculated, resulting

$$v=324\times10^6$$

which may be considered as the best prediction attained by the methods of this kind.

In the above treatment, since $y^*=3$, in order to predict C_{t+1}, we must use the values C_t, C_{t-1} and C_{t-3}, but it may be of interest to try the same treatment using C_{t-2} in place of C_{t-3}. In this case, the computation by the leat squares leads to the results that

$$a=1.17,\quad b=-0.51,\quad c=0.27,$$

giving

$$v=341\times10^6.$$

Slight depression of the accuracy may be due to the fact that the number of hatch is influenced by the magnitude of spawning shoal.

Referece

1) Kawakami T.: On the prediction of fishery based on the variation of stock. Mem. Coll. Agr. Kyoto Univ. No. 62, 27～35 (1952).

日本海西部に於けるシイラ漁況の研究—II.
"漬け"と魚付について

児 島 俊 平
(島根県水産試験場)

Fishing for Dolphins in the Western Part of the Japan Sea—II.
Why Do the Fish Take Shelter under Floating Materials ?

Shumpei KOJIMA

The dolphin, *Coryphaena hippurus* Linne, is known as one of many species of fish which seem to have a peculiar disposition to follow a floating substance in the sea, sometimes taking shelter under it. Making use of this habit, a type of fishery for the dolphin has developed along the coastal area of the Japan Sea, where bundles of bamboo poles, each built like a raft (Fig.1) are set at interval in the sea in order to provide shelters for the fish. When a sufficient number of the fish is found sheltering under a raft, fishermen enclose and capture them in a purse seine.

The present study is an attempt to find whether or not the length of time in which a bamboo raft is left in the sea to provide shelters would affect the number of the fish coming under it. For this purpose a series of observation were carried out with the raft-shelters set for various length of time during June to October 1954 in the area adjacent to the Shimane Prefectural Fisheries Experimental Station. The number of the fish observed sheltering under different rafts is indicated in Table 1 together with the length of period for which the rafts were used for the shelters.

The relationships between the duration of using the raft-shelter and the number of the sheltering fish are plotted in figure 3 in accordance with two groups of the shelters, old and new ones. In case of the old shelter A, the relationship may be expressed as $Y=15.8-0.46\,X$; while, in the new shelter B, $Y=0.61\,X$.

The evidence may be suggestive that the dolphin would take shelter under a floating substance most likely because of seeking food available more easily there than anywhere else. It is believed that the shelter may furnish a favorable environment for chains of food organisms for the fish, though a further study should be conducted to prove the assumption.

我国の沿岸には防風林，防砂林，防潮林と言うような保安林があり，その中には魚付保安林なるものも含まれている。魚付保安林の効果については古くから色々な説がなされておるが[1)2)]，保安林の効用の一つとしての魚が陰影に集まる代表的な例として，シイラは大洋で流木などの陰に好んで潜む習性があるので，この習性を利用して日本海沿海では竹を束ねて海中に漬けて置き，その陰にかくれたシイラを獲つている。これを"シイラ漬け"と呼んでいるが[2)]，そう言う意味合いからシイラ漬けは"魚漬け林"とも云われておる。

流木，鯨，鮫の浮游は魚群発見の目安として，カツオ漁業上甚だ重要な役割[4)5)6)]を果しておるのは衆知の事実である。しかるに今の処，シイラに限らずカツオ，キメジ等の表層游泳魚類が漬け，流木などにつく原因は不明であるから，これを究明することは生態学上の基本的問題であり漁業上からも重要なことゝ考えられる。即ち本研究はシイラが"漬け"に付く生態についての一つの観察結果の報告である。

調 査 方 法

調査置点 浜田港から距岸 15 浬置点を基点として磁針方位 NW に約 1 浬間隔で計 60 点の漬けを設置

1955 年 4 月 7 日受理

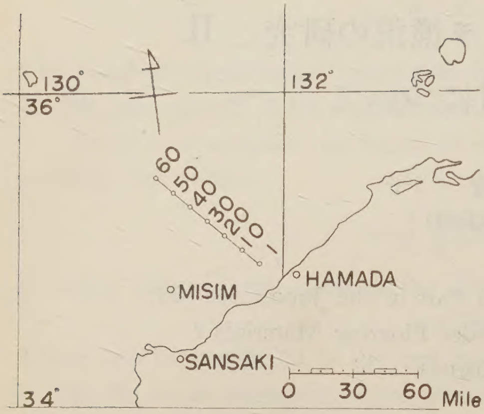


Fig. 1. 日本海西部のシイラ漁場
—○—○— 調査線と漬け番号
Stations of the Fish Shelter
Set for the Observation

し 70 浬の沖合に至つている（第1図）。

漬けの構造 台竹と称して孟宗竹径 9～13 cm，長さ 2 m のものを9本，その上へ 8 m のものを6本（玉柳竹，潮かつぎ）を重ね，目標として台に 2 m 位の見世木を立て漬け番号を付して，藁綱径 5 cm の碇綱を水深の4割増として碇 160 貫を付し設置する（第2図）。

使用旋網 嚢網；仕上り浮子方 29 間，沈子方 11 間，目合は綿糸 30～51 本子の8分目と1寸目。袖網；左側浮子方 28 間，右側 33 間，目合は 21 本の3寸目。網の打ち廻しは 90 間（140 m）である。

調査期間，操業方法 昭和 29 年7月～10 月末に亘つて当業漁船の便宜を得た。操業時間は日出から日没に終るが，漬けに到着したら船橋の上から魚見が 10 m 位の竹竿の先にイカをつけた誘いによつて，シイラその他を誘導すると共に漬けつき尾数の多寡を透視し投網如何を検討する。寡少の場合は投網せず次の漬けに移るが，投網から揚網までは迅速を要し約5分で終了する。

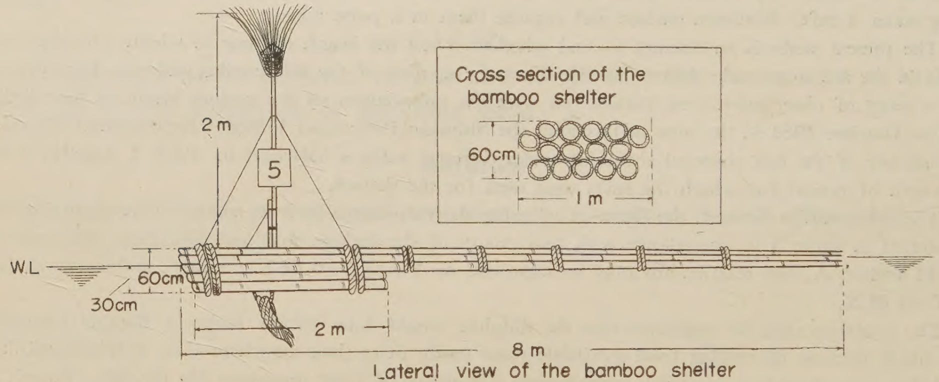


Fig. 2. シイラ漬けの構造図
Construction of the bamboo shelter for the dolphin.

結果と考察

1. 漬け設置経過日数と魚付き

シイラ漬けの設置は 1935 年頃は5月中旬に実施し6月には操業をしていたが[3]，戦後は全国的におそくなり6月末から操業を始めている。島根沿岸では9月1日から近海底曳網漁業が解禁（禁漁期間は6月1日～8月 31 日まで）されると，漁場が重複する関係から底曳船によつて多数の漬けが切断流失され終魚期近くまで残るものは僅少に過ぎない。しかしながら漁期中にあるので予備の新しい漬けを，切断又は自然に流失した置点に設置して操業を続けるのである。この場合，これら新・旧両漬けについて設置経過日数が如何に魚つきに影響するかを検討した。

新しい漬けの設置日9月 20 日を基点とした。新・旧両者の経過日数に対するシイラのつき具合は第1表の通りである。表中の漁獲尾数0は投網，並びに漬けを旋回しながらイカの誘いや透視の結果から魚つき無しと認め投網しなかつた場合を含む。9月 20 日以後に設置した新しい漬けは9月 20 日に設置したものと同様に見做して経過日数を揃へた。これを図示すれば第3図となる。

第1表の旧漬けについて，9月 20 日を起点とし経過日数 x と漬け1個宛平均付き尾数 y の関係を求め

Table 1. 9月 20 日以降に於ける新・旧漬けの魚つき状況
Number of Dolphins Observed under the Raft-Shelters.

Groups of Shelters	新漬け New Shelters						Old Shelters 旧漬け
Date of Setting Shelter 設置月日	18/IX	20/IX	22/IX	3/X	6/X	(Subtotal) 計	20/VI
Number of Shelter	4	5	8	4	3	24	11
経過日数 Cumulative Number of Days for Observation* 1	—	0	0	0	0	0	117$^{(10)}$
2	—	—	—	—	—	—	204$^{(10)}$
3	12	7	—	26	0	45	—
4	6	—	—	—	—	6	137
6	6	—	61	—	—	67	—
9	—	20	—	—	—	20	—
10	—	—	—	—	—	—	127
11	—	—	—	30	0	30	—
12	48	—	85	35$^{(2)}$	0$^{(1)}$	168	—
14	—	68	—	—	—	68	60
15	—	—	22$^{(6)}$	—	—	22	—
17	9	29	—	—	—	38	90$^{(7)}$
20	27	—	—	—	—	27	—
23	—	—	45$^{(5)}$	—	—	45	—
24	—	66	17$^{(5)}$	—	—	83	—
25	—	22$^{(4)}$	—	—	—	22	32$^{(7)}$
26	—	—	—	—	—	—	15$^{(5)}$
28	31	—	—	—	—	31	—
29	12	—	—	—	—	12	—

* 表中の魚獲尾数0は投網，並びに漬けを旋回しながらイカの誘いや，海中の透視結果から魚付きが0と認めた場合を含む。
* 新漬けで漬を設置した日も調査しておる。その方法は朝方漬けを設置して夕方調査したものである。
* 付け尾数の右肩括弧内の数字は調査又は操業した漬けの数，数字のないものは上欄漬数の全部についての結果

* The observation began on September 20 for the shelters set on and prior to that day, while, for the other shelters, it was started on the day when they were set in the fishing ground.
0 : No fish was observed.
— : No data were available due to lack of observation.
Numerals enclosed in parentheses indicate the number of shelters observed but less than those actually in use.

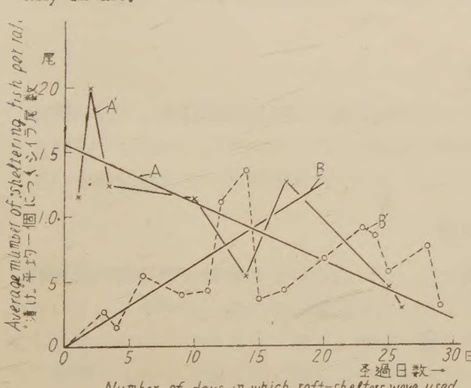


Fig. 3. 9月 20 日以降に於ける新・旧両漬けの魚つき状況（9月20日～10 月20日）。
* A, A′…旧漬け…6月 20 日に設置。
B, B′…新漬け…9月 20 日以降に設置。

Fig. 3. Relationships between the duration of using the raft-shelters and the number of the sheltering fish observed during a month ending on October 20, 1954.
A, A′ : Shelters used since June 20, 1954.
B, B′ : Shelters set on and after September 20, 1954,

ると，最少自乗法でA線の通り $y=15.8-0.46x$，相関係数 $r=-0.36$，有意水準 $\alpha=1\%$ で示される（第3図)。これから9月 20 日頃は漬け平均相当の魚つきがあるが，終漁期[3]に向っておるため一途減少しているのが明瞭である。新漬けによる魚つき現象は単純でないので観測日3回毎の移動平均をすると，初日はほとんどつかないが日数の経過と共に或る期間漸増に向い旧漬けと正反対の傾向を示すが，漬け設置後12，3日目からは旧漬けと同様の経過を辿る。増加の傾向にある経過日数12日間についてはB線の通り $y=0.61x$ で示される（第3図)。新漬けの中途の魚つき変動は，底曳船の行動範囲から資料が地理的に片寄つたので，海域の環境の相違と言うか，即ち付近にイワシ，イカ群があれば魚つきが悪く，群を追つて移動するので 4～5 日間も漁獲の無い事が往々にしてある。又，当期のシイラは小形が多く少々波浪があると漬けの動揺におそれて付きが悪い。これらが要因とも推察されるがいずれにしても上述の新漬けに対するシイラの付きが平衡状態になるまでには，或る期間を要するという事実の傾向を否定するものではな

い。

2. 論　議

末広[2]はカツオやマグロのような強大な魚も大洋にあつては，流木や鮫につき従うことから魚類が魚附林，流木等に付くことは心理的に防禦の手段として陰に潜むものと考えているようであり，その観点から秋谷[7]，その他は魚付林と陰の問題につき，真の陰の他に散光など光学的に検討してはみたもの丶，各人とも魚の真の習性や眼の機能の度合が不明なため判然とした結論を述べかねている。

もしも魚類が単に陰影を好むとか，防禦の手段として身を隠すことが第一義的なものならば漬けと魚つきで検討した如く，新しい漬けも設置当日から旧漬けと同様の魚つきがなければならない。しかしながら両者に甚だしい差異があり，日数の経過と共に漸次旧漬けの魚つきに近似し遂に同傾向を示すことは，シイラその他が食餌連鎖，それにもとづく群成反応による魚付きであることを示唆するものではなかろうか。これらの点に付随する種々の疑問については次の機会に譲りたい。

終りにのぞみ本研究の実施を心良く受け入れられた神藤正場長，並びに論文の御校閲，御指導をいたゞいた東海区水産研究所宮本秀明技官，乗船の便宜を与えられた戎丸一同に深謝する。

文　献

1) 松平康男："魚付林について（海洋学的意味）"，神戸海洋気象台彙報，No. 158 (1951).
2) 末広恭雄："魚類学"，岩波書店，p. 127～130 (1951).
3) 児島俊平："日本海西部に於けるシイラ漁況の研究—I"，日水会誌，Vol. 20, No. 12 (1955).
4) 矢部　博・森　徳見："流木カツオ，キメジ群の一観察"，日水会誌，Vol. 16, No. 2 (1950).
5) 宇田道隆・筑紫次郎："カツオの魚群組成の地方的変化"，日水会誌，Vol. 3, No. 4 (1934).
6) 相川秋広："水産資源学総論"，(1949).
7) 秋谷六三："魚付林の性質，水産研究誌，Vol. 8, No. 9.

キリンサイ，*Eucheuma spinosum* (L.) J. Ag. 粘質物に関する研究—II. 粘質物の純粋分離

中村武彦
（宮崎大学農学部）

Studies on Mucilage from the Seaweed, *Eucheuma spinosum* (L.) J.Ag.—II. Separation of Pure Mucilage

Takehiko NAKAMURA

The method used by MORI and TSUCHIYA for the study of carrageenin was adopted but immediate filtration of obtained extracts was done by the present author. A cold water extract was first prepared from 100 g. of the alga which had been rinsed with fresh water, and then freed from the extract, the material underwent hot water extraction. Filtration of the above two extracts gave rise to a filtrate and a residue for each.

Four kinds of fluid were thus obtained with properties as listed in table 1. Partial hydrolysation under conditions tabulated in table 2 was followed by dialysis. Addition of $BaCl_2$ solution and methanol precipitated Ba salts from the liquids. The Ba salts were then dissolved wish hot water and again precipitated by $BaCl_2$.

This procedure was repeated several times to get purification of the stuffs. Finally drying in vacuo at a room temperature facilitated analysis as given in table 3.

It should be admitted that the materials yielded to analysis were not pure since a small amount of nitrogenous compounds was recognized in them. Yet a ratio of sugar residue to a sulphate was almost the same for the four stuffs, namely, 1 : 1. Color reaction was the same for the sugar components of the four. This suggests existence of sugar of the same chemical composition in them.

緒　言

前報に於て，本紅藻粘質物は特異な凝固性を有するにかゝわらず，一般成分からみるとフノリ質に近いことを報告[1]したが，引きつゞいてその化学的性質を明らかにするためまず粘質物を純粋に分離することを企て且つその組成について研究を行つたので，ここに報告する。

実験及び成績

粘質物の構成糖を研究するにあたつて，まず最初に逢着する難関は如何にしてこれを純粋に分離収得するかということであり，次には分離出来たとしてもその高分子コロイドによる取扱い困難を如何にして容易にせしめるかというこの2点である。従来一般に行われている分離法は浸出粘質物をアルコール等の溶剤をもつて沈澱せしめる方法であるが，これではどうしても粗繊維質，蛋白等の不純物の混在を免れず，それらを除くことは困難であるので，著者は森等[2]の行つたツノマタ，ギンナンソウよりの粘質物分離方法に従つて，最初冷浸出を行い，ついでその残藻について温浸出をなしたるのち，各浸出液は加圧処理による Depolymerisation をなし，透析後 Ba 塩として純粘物質を得る方法を採つた。

1. 冷浸処理　淡水洗風乾キリンサイ原藻（水分 17.94%）100 g に蒸溜水 2 *l* を加え，一夜浸出後裏漉（30メッシュ）にかけ水を切りたるものに同量の水で第2回目の浸出を行い再び裏漉する。この操作を都合3回行つて冷浸液 8.890 cc を得た。この冷浸液は2，3日放置中（Toluene を加えて防腐する）凝結

1955 年 7 月 25 日受理

物を沈降してくる。これを分離するため濾過する。濾過は極めて困難であつたが最後になると殆ど濾過出来なくなつたので遠心分離を併用した。この際一時的ではあるが温度が 32° に上昇した。(浸出温度 20—21°) かくの如くして冷浸濾液約 7 *l* と濾過不能の凝結物(ゲル化)1,460 g を得た。濾液は 40° 以下で真空濃縮して 2 kg 以下となし pH が 8.16 の如く弱アルカリ性を呈するので 1 %HCl を用いて数回にわたり中和して 7.12 となしたるのち蒸溜水で一定量 2 kg となした。このものは放置により強くゲル化した。冷浸残渣の部分は pH 6.85 であつたので中和することなく,水を以て一定量 2 kgとなした。

2. 温浸処理　冷浸後の残藻にはなお多少の粘質物が残つているが,このものを 3 回肉挽器にかけたのち 1 *l* の蒸溜水を加え,湯浴上 3 時間加温一夜放置後裏漉し,一応加温して溶解し濾過する。濾過は極めて困難であつたが濾液 900 cc と濾過不能残渣 500 g を得た。前者は pH 5.54 であつたので 1 % NaOH で中和し 6.93 とし 1 *l* に mess up した。このものはゲル化しない。残渣の方は pH 6.16 で同様に中和して 1 kg となし一定量とした(ゲル化す)。

なお裏漉後粕が乾物として 5.5 g 残つた。

かくの如くして,都合 4 種の冷温浸出粘質物を分離した。分離した粘質物の収量,濃度および pH などを取纏めると第 1 表の如くである。

Table 1. General properties of separated mucilage.

Kinds of extract of mucilage		Yield (on air-dried basis)					pH Initial	pH 8 days after neutralization	Conc. on water free basis	Color and gelatinization property
		Settled quantity	Solid matter g.	Solid matter %	Sum g.	Sum %				
Cold water extract	Filtrate	2 kg.	12.9	20	43.8	76	8.16	6.88	0.61	Strongly gelatinized*. Reddish brown
	Residue	2 kg.	30.9	50			6.85	6.38	1.24	Gelatinized*. Dark red-brown
Hot water extract	Filtrate	1 *l*.	4.2	7	13.8	24	5.54	7.05	0.32	Not gelatinized*. Faint color
	Residue	1 kg.	9.6	15			6.16	7.01	0.64	Gelatinized*. Dark red-brown
Dregs		—	5.5	8	—	—	—	—	—	
Sum		—	63.1	100	57.6	100	—	—	—	

* Gelatinization strength of the mucilage assumes different values when tested with different concentrations, but it gives a nearly same one when examined with the same concentration, viz.,2 %.

3. Depolymerizatian　これ等の粘質物はこのまゝでは取扱いにくいので,これを容易にするため, Depolymerisation すなわち Fehling 反応の出現を限界点として,その加水分解条件を求めて本試験を行つた。その結果は第 2 表の如くである。

Table 2. Depolymerisation, its condition and results (steam pressure : 2.5 atm. press.).

Kinds of extract of mucilage		Condition: Sample taken g.	Condition: Hour	Retults: Fehling's reaction	Retults: Relative viscosity* (5cc. at 25°C.)	Relative viscotity* before depolymerisation (conc. 0.39 %, 5cc. 25°C.)
Cold water extrac	Filtrate	1000	5	(—)	3.1	Gelatinize
	Residue	1000	3	Slight (+)	1.1	58.4
Hot water extract	Filtrate	500	5	(—)	1.6	29.6
	Retidue	500	1.5	Slight (+)	1.0	35.7

* Measured by Ostwald's viscosimeter.

処理後の液はいずれも粕を含んでいるので濾過水洗し，ついでセロハン紙を用いて 4 日間流水中で透析を行つた。

4. Ba 塩の調製と分析　透析終了後濾過水洗し，洗液をも合併したのち，これに $BaCl_2$ 溶液を加えるのであるが，この粘質物が Galactose の硫酸エステルであると仮定して，$BaCl_2 2H_2O$ の所要量を計算しその 3～4 倍量に相当する量を温飽和水溶液として加えた。ついで精製メタノールを沈澱が完結するまで加えて，一夜放置し濾過しメタノールで洗つたのち，Ba 塩は再び温水に溶かす。この際膠質状を呈するが易溶である。一旦濾過温洗後再びメタノールを加えて沈澱をつくる。かくの如き操作を No. 1 区分では都合 5 回，No. 2 では 7 回，No. 3 では 4 回，No. 4 では 7 回繰返した。こうして得られた Ba 塩にはなお微量ながら窒素の存在を示した（NH_3 反応による）。最後の沈澱はエーテルで数回洗い、真空デシケーター中で乾燥して淡灰白色又は白色の粉末を得た。

このものにつき収量，水分，窒素，硫酸およびBa並びにに糖を定量した。その結果は第 3 表の如くである。但し粗蛋白はミクロケルダール法、全糖はベルトラン法（加水分解最適条件は塩酸を用いる場合，その濃度2.5 %，湯浴中 2—2.5 時間である事を予め確めたのでこの条件で行つた），他の成分は常法により定量した。

Table 3. Analytical results of barium salt.

Kinds of extract of mucilage		Yield (on air dried basis)	Impurity %		% (on water and crude protein free basis)					
			Water	Crude protein (on water free basis)	Ba	Total S	SO_4 (calc.)	Total sugar (galactose)	Ba+ SO_4 + Total sugar	Aldose*
Cold water extract	Filtrate	ca. 4.0	3.44	1.19	21.0	11.0	33.2	44.7	98.9	51.3
	Residue	〃 4.0	4.88	1.38	19.3	9.3	28.3	51.9	99.5	52.5
Hot water extract	Filtrate	〃 1.0	5.02	0.25	21.0	10.4	31.2	47.0	99.2	48.6
	Residue	〃 1.5	6.16	1.63	19.2	10.1	30.4	50.5	100.1	54.0
Theoretical (as $C_6H_9O_5OSO_3Ba_{1/2}$)					21.1	9.8	29.4	49.5	100	

* Measured by WILLSTÄTTER-SCHUDEL's method.

なお Ba 塩がツノマタ類と同じように次のような構造[3]をとつているものと仮定して，Ba, S（SO_4として）及び糖の割合を算出したものを理論値として同表に併記した。

($C_6H_9O_5OSO_3Ba$ $^1/_2$)

次に各区分の粘質物について糖の呈色反応による定性試験を行つた処次のような結果を得た。そして各区分とも反応が全く同一で，反応中の挙動もまた全く類似していた。

（1） Ketose 反応（SELIWANOFF, PINOFF, IHL-PECHMAN, モリブデン酸安母反応）……強く陽性

（2） Pentose 反応（Orcinol, Resorcinol, 醋酸アニリン反応）……陰性

（3） Hexuron 酸反応（Naphthoresorcinol 反応）……判定し難い

（4） Methylpentose 反応（Acetone, WIDTSOE-TOLLENS, Phloroglucinol 反応）……陰性

考　　察

第 3 表の理論値と分析値とを比較考察するに，各区分の調製品は窒素をなお微量含み従つて全く純品とはいゝ難いのと，成分割合に多少の差異があるので確実なことはいえないが，いずれも糖と $BaSO_4$ とが 1 : 1 の比に結合しているものと考えられる。たゞ S 含量が理論値よりやゝ多いがその理由は今後の研究によつて明かにしたい。

次に各区分の糖の呈色反応はいずれも同一反応同一挙動を呈することから，各区分とも同種の構成糖より成つていることが推論出来る。

総　　括

以上の結果を総括すると次の如くである。

（1）キリンサイ粘質物は浸出処理により4区分即ち冷浸濾液と同残渣，温浸濾液と同残渣に分離される。

（2）これらの粘質物を純粋に分離するため，部分加水分解して透析後，塩化バリウム飽和溶液とメタノールを加えてバリウム塩として調製した。

（3）それぞれのバリウム塩の成分を分析して，何れも糖とエステル型硫酸が 1：1 の割合であること及び呈色反応の結果から構成糖の種類も同一であろうと推論した。

終りに本実験は東京大学水産化学教室に於て，森教授の御指導の許に行ったもので，本報告を終るにあたり始終御懇篤なる御指導を賜った森教授並に実験に対し種々御便宜を与えられた同教室各位に深甚なる謝意を表する次第である。

文　　献

1） 中村武彦：日水会誌 **20**，501（1954）.

2） 森高次郎，土屋靖彦；日農化誌 **14**，609，616（1938）；**15**，1065（1939）.

3） T. Mori："Advances in Carbohydrate Chemistry" Vol. 8，Academic Press，New York（1953），pp. 336–338.

キリンサイ *Eucheuma spinosum* (L.) J. Ag. 粘質物に関する研究—III. 構成糖に関する研究

中 村 武 彦
(宮崎大学農学部)

Studies on Mucilage from the Seaweed, *Eucheuma spinosum* (L.) J. Ag.—III. Studies on Component Sugars of Cold Extract

Takehiko NAKAMURA

Cold extract was obtained from 1 kg. of the alga by the method adopted in the previous paper. Nitrogen-free barium salt was prepared from filtrate of the above extract, with the ratio of sugar residue to combined sulfate as 1 : 1.

With a view to clarify sugar components of this salt, hydrolysation with 3 % H_2SO_4 in a water bath for 2.5 hours was followed by complete neutralization with $Ba(OH)_2$ solution. The fluid was thickened to a consistency of syrup in vacuo at temperatures below 40°C.

The syrup was ascendingly chromatographed on No. 2 Toyo Filter Paper. Three spots were made visible on the paper with *P*-anisidinehydrochloride as tabulated in table 1. Chromatographical separation of component sugars was done as follows : First, take a sheet of the filter paper 30 cm. in width. The syrup was drawn on it as a transverse strip 3 mm. in width at a height of 6 cm. from the lower edge. Then it was chromatographed as mentioned above. After a lapse of 24 hours, three locations (upper, middle and lower) were cut off according to Rf values. Hot water extractions were identified by color reaction, chromatography or some other methods. (Table 2 and 3).

The results obtained may be summarized as follows :

(1) The upper represents an unknown sugar. This is not fructose although it gives SELIWANOFF ketose reaction. An attempt to prove it as anhydro-galactosephenylosazone has been futile.

(2) The middle is likely to represent glucuron since it shows DISCHE's reactions (Figs. 1 and 2).

(3) The lower corresponds to galactose since it gives α-methylphenylhydrazone (m.p. 190°).

It may be mentioned that proportion of glucuron to anhydro-sugar (assumed), and galactose nearly runs as 1 : 3 : 12.

緒 言

前報に於て構成糖研究のため著者は冷浸，温浸濾液及その残渣都合4種の粘質物をバリウム塩としてほゞ純粋に分離し，何れも糖とエステル型硫酸が 1 : 1 の割合であること及びその糖の種類も同一であろうと推論した[1]。

しかしながら，得られたバリウム塩はなお純粋でなく，本研究を遂行するには試料不足のため新しく冷浸濾液から多量に全く純粋のものを調製して構成糖の研究を行い，多少の知見を得たのでここに報告する。

実 験 及 び 成 績

1. 冷浸粘質物 Ba 塩の再調整と分析 前報に於けると同様の操作により，原藻 1 kg から 41.5 *l* の冷浸濾液（始めの pH 7.92 で処理中変動し，酸性に傾く）を得，これを 40°C 以下にて約 2*l* まで真空

1955 年 7 月 25 日受理

濃縮し（pH 6.33），122°C 1時間 Depolymerise した。（今回は予備試験の結果，前よりも分解しやすいことを知つた）。濾液は濃赤褐色を呈し，Fehlng 液を僅に還元する。収量 1740 cc，ついでこれに温飽和 $BaCl_2 2H_2O$ 50 g を加え，メタノールから Ba 塩を沈澱（粘結性）せしめ，これを濾過分取して再び $BaCl_2$ とメタノールを以て再沈澱を繰返すこと3回（次第にサラサラした沈澱となる），第4回以後6回までは $BaCl_2$ を用いず，代りに精製骨炭を以て脱色処理後，メタノール沈澱を行つた。かくして，沈澱は純白色にして全くサラサラしたものとなり，窒素反応は陰性であつたが，もう一度最後のメタノール沈澱を行い，都合7回行つてエーテルで洗滌し，デシケータ中真空乾燥し，純白粉末 41 g を得た。このものの分析結果は次の通りである（無水物に対する%）。

Ba : 19.7,　Total S : 9.4,　SO_4(Calc.)28.3,　Total sugar (as Galactose) : 49.0,　(Ba+SO_4+Total sugar) : 97.0

即ち，糖とエステル型硫酸とは1：1の割合であるものと考えられる。なお，呈色反応も前と全く同じであつた。即ち ketose 反応を明瞭に示し，ウロン酸反応は存否の判定が困難であつた。

2. ペーパークロマトによる糖の分離　ペーパークロマト法によつて構成糖の分離を試みた。即ち，Ba 塩に3% H_2SO_4 40 倍量を加え，2.5 時間湯浴中で加水分解後，$Ba(OH)_2$ 溶液を以て精密に中和したるのち濾過し，骨炭を以て一応脱色後 40°C 以下で真空濃縮し，黄金色のシラップを得た。このシラップの小部分をとり水で適当な濃さとなし，上昇法によりペーパークロマトを実施した。溶剤は研究の結果 BuOH；AcOH が最も分離能よき事を認め，専らこれを用いた。発色剤はアニシジン塩酸塩の3%ブタノール溶液及アニリンフタレートブタノール溶液を用いたが，特に前者が好適であることを知つた。濾紙は東洋濾紙 No. 2 を用いた。

結果はスポットが3個得られ，その Rf，色調（アニシジン塩酸）は第1表の如くである。この呈色を既知の糖と比較すると，それぞれ上からケトーズ，ウロン酸及びアルドーズである事が明瞭である。

Table 1. Paper-chromatogram of barium salt hydrolysate (cold water extract, filtrate).

Location	Upper	Middle	Lower
Spot color	Bright yellow	Purple	Brownish orange
Rf	0.81	0.28	0.18

Note : Method : Ascending, at room temperature, for about 24 hours. Filter paper : Toyo Filter paper No. 2. Solvent : BuOH : AcOH : H_2O, 4 : 1 : 2. Color reagent : Anisidine-hydrochloride in *n*-butanol (3% solution).

Table 2. Color reaction of sugar in respective locations (compared with pure sugar).

	Reactions	Upper	Middle	Lower
Ketose	Diphenylamine (Ihl-Pechman)	(+) Indigo blue	(±) Ultramarine	(±) Dark purple
	α-Naphthol (Pinoff)	(±) Dark strawberry	(±) Dark strawberry	(±) Purplish redish brown, turbid
	Resorcinol (Seliwanoff)	(+) Bright orange red	(−)	(−)
	Ammonium molybdate	(±)	(±)	(+)
Pentose	Resorcinol (Rosentraler)	(−)	(+) Reddish purple	(−) Yellow orange
	Aniline acetate	(−)	(+) Clear	(−)
	Phloroglucinol	(−) Brown	(+) Purplish red	(−) Brown ppt.
Uronic acid	Naphthoresorcinol	(±)	(+) Purplish orange	(−)
Methyl pentose	Acetone	(−) Yellow	(−) Yellow	(−)
	Phloroglucinol (Oshima-Tollens)	(−)	(−)	(−)

Kinds of reaction		*d*-Fructose	*d*-Glucuron	Xylose	Rhamnose	*d*-Galactose
Ketose		(+) Indigo blue	(−) Brown	(−) Yellow ppt.	(−) Strawberry	(±) Violet
		(+) Dark purple	(−) Dark grey	(−) Dark violet, turbid	(−) Dark reddish brown, turbid	(±) Violet brown, turbid
		(+) Bright orange red	(−)	(−)	(−)	(−)
		(+) Dark blue	(−)	(−)	(−)	(+)
Pentose		(−) Dark strawberry	(+) Violet blue	(+) Dark violet	(−) Orange brown	(−)
		(−)	(+)	(+) Bright red	(−) Yellow	(−)
		(−) Dark reddish brown	(+) Violet red	(+) Dark violet red	(−) Dark brownish red	(−) Orange reddish brown
Uronic acid		(−) Yellow orange *	(+) Clear	(−)	(−)	(−) Faint Greyish green
Methyl pentose		(−) Dark brownish red	(−) Reddish brown	(−) Orange yellow	(+) Bright strawberry	(−) Faint yellow
		(−) Faint yellow	(−) Greenish blue	(−) Greenish blue	(+) Orange, ppt. (green yellow)	(−)

* Changes to dark reddish brown.

3. 各分離糖の定性　横 30 cm，縦 54 cm の東洋濾紙 No. 2 の下縁より 6 cm の部分に巾約 3 mm の帯状に分解液をつき，前と同様の溶剤を用いて上昇法により展開し上記 3 区分に相当する部分を切り取り，温水を以て抽出したるものにつき定性反応を行った。結果は第 2 表の如くである。なお，対照試験として試料なしに展開した濾紙片から，温浸出したものに純品を加えたものを使用した。

第 2 表より判る如く，第 1 区分はケトーズ反応として Seliwanoff 反応を明瞭に与えるが，モリブデン酸安母反応は (±) で，この点フラクトーズと一致せず，第 2 区分はペントーズ反応を与え，又ナフレゾルシン反応も色調が純品の場合と多少異るも (+) の如く従つてウロン酸らしく，第 3 区分はケトーズ反応中モリブデン酸安母反応を与えるが，Seliwanoff 反応を全く与えない外他の反応も全部 (−) で，この点ガラクトーズと略一致している。

4. ペーパークロマトに依る糖の確認　第 1 区分に純フラクトーズを加えたものと，加えないで第 1 区分だけのものの 2 種を平行して展開し，第 2 区分には純 *d*-グルクロン酸ラクトン，即ちグルクロンをもつて第 1 区分と同様に，又第 3 区分には純 *d*-ガラクトーズと同様に平行して展開すると，スポットの顕われる。状況は第 3 表の如くである。

Table 3. Paper-chromatogram of barium salt hydrolysate and pure sugars as control.

Location	Upper		Middle		Lower	
Kinds of sample	Hydrolysate + *d*-fructose	Hydrolysate only	Hydrolysate + *d*-glucuron	Hydrolysate only	Hydrolysate + *d*-galactose	Hydrolysate only
Spot color and number	2 Spots, Bright yellow	1 Spot, Bright yellow	1 Spot, purple	1 Spot, purple	1 Spot, Brownish orange	1 Spot, Brownish orange
Rf	0.80　0.23	0.80	0.29	0.26	0.16	0.16

Note : Chromatographical method is the same as Table 1.

即ち，第 1 区分の Rf はフラクトーズとは全く位置を異にしているので，フラクトーズでないことが明であり，第 2 区分はグルクロン酸のラクトンらしく，第 3 区分はガラクトーズではないかと推知される。

5. 第 1 区分糖に関する研究　寒天，ツノマタ等の粘質物には，フラクトーズではないが Seliwanoff

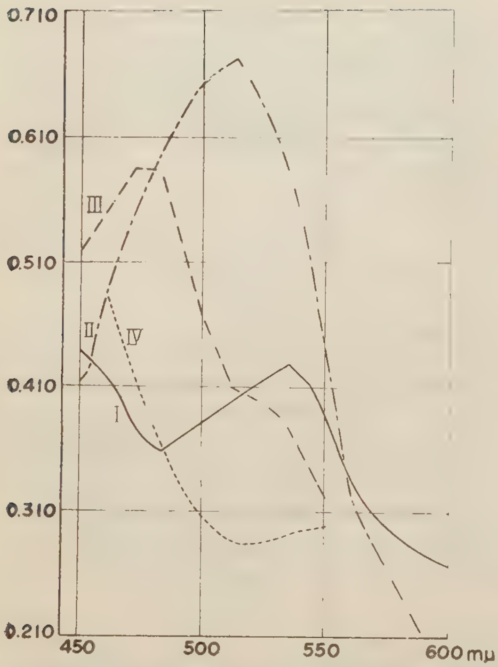


Fig. 1. Absorption spectra of the thioglycolic acid reaction of uronic acids.

Ⅰ ——— Sample
Ⅱ —·—·— Glucuron
Ⅲ ····· ··· ····· Mannuronic acid (measured by T. SATO)
Ⅳ ············ Galacturonic acid (〃)

反応を与える物質 3.6-Anhydrogalactose が HANDS 及 PEAT[2]，荒木[3] 等により分離され，その後多くの人々によりこの物質の性質が研究せられ，BARRY，DILLON 及 McGETTRICK[4] によつてこれが寒天の一成分を構成していることが証明された。

第1区分の Rf が飛びはなれて高い位置にあることは，このものゝ存在を示すものではないかと考え，荒木[5]，OHLE 及 THIEL[6] 等が行つたフエニールオサゾン同定法に従つて，クロマトで分けたこの区分について行つたが，まだ成功に至らない。なお 3.6-Anhydro-*d*-galactose の *d*-純品をガラクトーズより目下合成中である。

6. 第2区分糖に関する研究　この区分は定性反応及びペーパークロマトによりほゞグルクロンと推定されるので，GOLDSCHMIDT，AKAD 及 ZERNER[7] の *p*-Brom-phenylosazone-glucuron 酸バリウム同定法を実施したが，これまた不成功に終つた。

次に，グルクロン酸とガラクトロン酸の区別が可能であると報ぜられている DISCHE の反応[8), 9)]，即ち前者は濃硫酸で分解後 Thioglycolic acid で，後者は Cysteine を以て発色させたものを吸収スペクトルにて検する方法であるが，著者もこの方法に従つて吸収スペクトルを検した処，グルグロン酸の純品に較べて多少ピークがずれているのと（純品 510 mμ，試料 530 mμ），これよりも短波長のところにもピークがあるものの如くであるので確定的なことは云えないが，しかしガラクトロン酸やマンヌュロン酸でないことは確かであつた（第1図，第2図参照)。

7. 第3区分糖に関する研究　本区分がガラクトーズではないかということは当然考えられるところであるが，常法により α-Methyl-phenylhydrazone として同定した。このヒドラゾン特有の銀箔光板状結晶が得られ，3回の再洪によるも融点の上昇はなく 190.0°C を示し，混融試験を行つても融点降下を示さないので，ガラクトーズである事に間違いない。

8. 各区分糖の割合　各区分は第3区分を除いて糖の同定が確かでないが，今後の研究の目安として大体の割合を知つておく必要があるので，別にシラップ 100 mg（水分 45.6 %）を前と同様の方法で帯状に展開したのち各区分に切り取り，一定量の温水を以て抽出したものを一定量採り，WILLSTÄTTER SCHUDEL 法により定量した。勿論，各区分糖の回収が厳密に定量的であることは考えられないので，正確とはいゝ難いが，第1区分はアンヒドガラクトーズ，第2区分はグルクロン酸と仮定し，第3区分はガラクトーズとして計算した結果は次の通りであつた。

Anhydrogalactose ($C_6H_{10}O_5$) (assumed)	11.20 mg.
Glucuron ($C_6H_8O_6$)	3.58 mg.
Galactose ($C_6H_{12}O_6$)	42.00 mg.

従つて，その割合はほゞ次のようになる。

Glucuron : Anhydrogalactose : Galactose = 1 : 3 : 12

即ちグルクロンは極めて少なく，大部分がガラクトーズより成つている事が推知される。

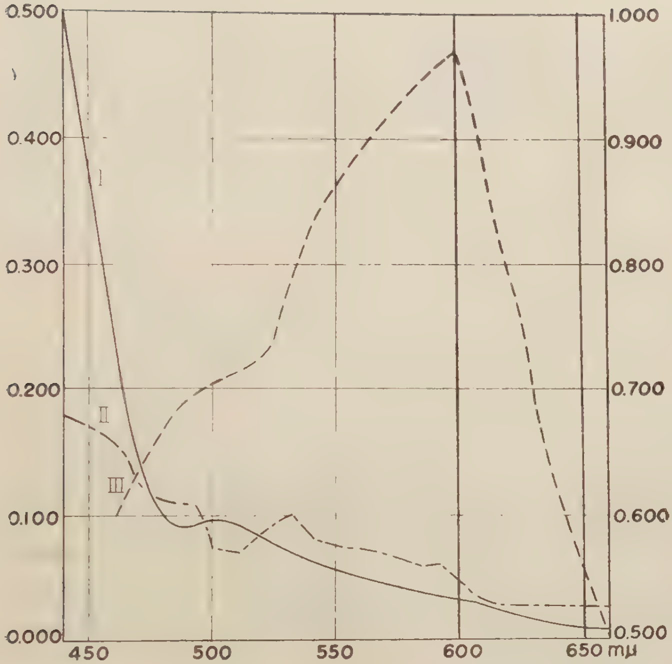


Fig. 2. Absorption spectra of the cysteine reaction of uronic acids.

I		Sample
II	—·—·—	Grucuron
III	············	Galacturonic acid (measured by T. SATO)

総　　括

以上の結果を取纏めると，次のようである。

（1） 冷浸濾液の Ba 塩を新しく調出し，このものについて構成糖の研究を行い，糖と $BaSO_4$ の比が 1：1 であることを明かにした。

（2） この Ba 塩から，硫酸加水分解後 $Ba(OH)_2$ で中和することによつて得られた糖のシラップは，ペーパークロマトグラフ法により 3 成分に分離せられ，その各区分についてペーパクロマトグラム，定性反応及びその他の反応から同定を行つたところ，第 1 区分はフラクトーズではないが，ケトーズ反応を与える未知物質，第 2 区分はまだ断定は出来ないが，グルクロンらしく第 3 区分はガラクトーズであることを明かにした。

なお目安としてゞあるが，これら糖の含有割合はグルクロン 1 に対し未知物質（文献から一応アンヒドロガラクトーズと仮定して）3，ガラクトーズ 12 であつた。

終りに，本実験は東京大学水産化学教室に於て森教授御指導の下に行つたもので，本報告を終るにあたり始終御懇篤なる御指導を賜つた森教授並に実験，文献調査等に格別の御便宜を計り下さつた松浦，橋本両助教授，佐藤篤司氏外教室各位に対し深甚なる謝意を表する。

文　　献

1） 中村武彦： 本誌，**21**，1053（1956）．
2） S. HANDS and S. PEAT： *Nature*，**142**，797（1938）．
3） 荒木長次，新井　清： 日化誌，**61**，503（1940）．
4） V.C. BARRY，T. DILLON and W. Mc. GETTRICK： *J. Chem. Soc.*，183（1942）．
5） 荒木長次： 日化誌，**61**，775（1940）．
6） H. OHLE and H. THIEL： *B.*，**66**，525（1933）．
7） G. GOLDSCHMIDT，M.K. AKAD and E. ZERNER： *Monatschrifte für Chemie*，**33**，1228（1912）．
8） Z. DISCHE： *J. Biol. Chem.*，**171**，725（1947）．
9） Z. DISCHE： *Arch. Biochem.*，**16**，409（1948）．

カツオの生化学的研究—VIII.
幽門垂におけるアンモニア生成の機構について（1）

柏田研一
（鹿児島大学水産学部）

Biochemical Studies on Skipjack, *Katsuwonus vagans*—VIII. On the Mechanism of Ammonia Formation in Pyloric Coeca (1)

Ken-ichi KASHIWADA

Pyloric coeca contains generally scores mg. % of ammonia even when it is in fresh state, and this ammonia increases gradually together with the progress of autolysis. In the studies reported in this paper the author dealt with the mechanism of these significant phenomena. In this study the extracts of fresh pyloric coeca was added to several substances — urea, amino acids, adenine, guanine, glutamine, asparagine, creatine, creatinine, guanidine and methyl-guanidine, and they were reacted under a definite condition, but no ammonia formation was perceptible. By these experiments, it is suggested that the ammonia seems to be a decomposing product in some new enzymic reaction.

緒言

筆者はこの研究の第1報[1]に於て幽門垂の一般成分上の特徴を指摘したが，更に特筆に値する今一つの著しい特徴は幽門垂に極めて多量の揮発性塩基が存在することである。動物体成分としての揮発性塩基は蛋白質その他含窒素エキス成分が腐敗する場合のアンモニア及びアミン，板鰓類に於ける尿素に起因するアンモニアなどが最もよく知られた例で，大谷によって発表された自己分解の際のアデニン，グアニンなどを前駆体とするアンモニアは一般にその生成量が少く，腐敗の際の生成量に比較すれば殆んど問題にならない。然るにカツオ幽門垂に於ては新鮮な魚体のものでも屢々鮮組織中数十ないし百数十 mg % に達する。かように多量の揮発性塩基が存在することは独りカツオ幽門垂に限って見られる現象ではなく，太田[2]は鮮肉中約 20 mg % のアンモニアを含むサバに於てその幽門垂が 144 mg % のアンモニアを含んでいたことを報告している。なお生活中の魚の幽門垂のアンモニアについては現在まで定量の機会がないので不明であるがこれほど多量に存在するものではなく，恐らく他の器官における含量と大差ないのではあるまいか。この揮発性塩基はトルオール及びチモール共存の防腐状態に於ても盛んに生成され，又幽門垂を零下十数度に凍結して置いてもなお相当量の生成を見るので，細菌類によって営まれる生化学的変化によるものではなく，恐らく幽門垂内における或種の酵素作用による生産物であろうと想像される。本研究は腐敗によらざるこのような多量の揮発性塩基生成という珍しい現象を取上げ，この変化が如何なる機構によって行われるかを知るのを当面の目的として始めたものである。現在なお継続実施中であるがこれまでの成績を取まとめ逐次報告の予定である。又この研究に関連し派生的に進めつゝある一研究は「水産動物組織より揮発性塩基の生成に関する研究」として並行的に報告している。両者は密接不離の関係にある研究であるから両報告を相互に参照せられることを御願いしたい。

実験の部

実験 1. 幽門垂における揮発性塩基の種類

1955 年 8 月 9 日受理

前記の如く普通動物体に存在する揮発性塩基はアンモニアとアミンであるが，この研究を進めるに当って幽門垂中のものがこの何れであるかを知る必要があるので，トルオール3％，チモール 0.2％ を加えた幽門垂を約 30°C に放置し，その中のアンモニア態及びアミン態窒素を WEBER 及び WILSON 法[3] によって定量し，時間的変化を験した結果は次表の如く揮発性塩基の大部分（95％ 内外）がアンモニアであった。

Table 1. Volatile base formation from pyloric coeca in the course of autolysis.

Time of autolysis	Total volatile base N……(V)	Ammonia N……(A)	Amine A	$\frac{A}{V}\times 100$
42 hr.	145 mg.%	138 mg.%	7 mg.%	95.3
114	159	151	8	95.0
306	171	161	10	94.2

以下本研究に於ては通常の減圧蒸溜法によって揮発性塩基窒素を定量しているのであるが，上表の結果から便宜上これを随時アンモニアということとし，表題にもアンモニアなる語を用いた次第である。

さて幽門垂におけるアンモニア生成の機構を研究するに当っては色々の行き方が考えられようが，まずこの変化が既知の化学反応形式によるものか，それとも未知の新機構によるものであるかを知るのが先決問題であると考え，反応生産物の一つとしてアンモニアを生ずることの知られている生化学的変化が幽門垂組織内で行われるか否かを確かめて見る方法によって実験を進めた。

実験 2. 幽門垂における尿素及びウレアーゼの検索

比較的新鮮な魚体中に多量のアンモニアの生成する最も顕著な例は板鰓類に見られ，これは周知の如く魚体内に存在する多量の尿素がウレアーゼによって分解される変化である。幽門垂に於てはサメ肉に匹敵するほど多量のアンモニアが生成するので，まず幽門垂における尿素とウレアーゼについてその存在を試験することを最初に取上げこの実験を行った。

まず幽門垂に尿素が存在するか否かを確かめるため新鮮な幽門垂 5g に水 25cc を加えて 100°C に 10 分間蒸煮した後，大豆粉末（この中に強いウレアーゼの作用の存することは別の定性試験によって確認した）0.2g とトルオール2％，チモール 0.2％（チモールは予めトルオールに溶解しておく）を加え，PH を 6.4 として 37°C に 5 及び 10 時間放置した後アンモニアを定量した結果は次表の通りであった。

Table 2. Ammonia formation from pyloric coeca in assay of urease.

Time of reaction	Ammonia N
0 hr.	115 mg.%
5	118
10	120

供試幽門垂自体に相当多量のアンモニアが含まれているので，この実験のための試料としては或は理想的のものではなかったかも知れないが，生鮮幽門垂を自己分解せしめると通常 200 mg％ 以上に達するアンモニアが生成されることを実験しているから，上記の試料にもアンモニアの前駆物質は当然含まれているものと考えてよい。にも拘らずこれにウレアーゼを添加してもそのためにアンモニアの生成された跡は殆んど見られない。なお尿素は加熱によって分解するが 100°C，10 分間程度の加熱による尿素の分解は軽微で，仮りに加熱による尿素の分解を考慮に入れても尿素が幽門垂における多量のアンモニアの前駆体になっているとは考え難い。なお別に同一試料の冷水及び熱水浸出液につきキサントヒドロール法を試みたが，尿素は少くとも肉眼的には検出できなかった。

次に幽門垂中に尿素が存在し，若しくは二次的に生成されるとしても，ウレアーゼが共存しなければアンモニアの生成は起り得ない。よって幽門垂中にウレアーゼが存在するか否かを次に実験した。即ち 3％尿素水溶液（PH 6.4）に，幽門垂の冷水浸出液，グリセリン浸出液又は幽門垂粥そのままを酵素剤として加え，40°C に 1～6 時間作用せしめ，水に酵素剤を加えた対照区を一方におき実験したが何れの酵素剤を用いた場合もアンモニアの生成は全く認められなかった。

この実験結果から判断すると幽門垂中のアンモニアは少くとも尿素の分解によって生ずるものではない。

実験 3. 幽門垂におけるアルギナーゼ及びヒスチダーゼの検索

生体内に於てアンモニアが生成される酵素化学的変化としてアルギナーゼ及びヒスチダーゼの作用が知ら

れている。即ちアルギニンがアルギナーゼによってまず尿素とオルニチンに分解され，前者はウレアーゼの存在に於てアンモニアを生成するという著名な変化がある。又ヒスチヂンはヒスチダーゼによって分解されグルタミン酸，ギ酸及びアンモニアを生ずるが，幽門垂エキス中のヒスチヂンは，筆者等も確認しているので[4]若しヒスチダーゼが存在すれば当然この反応によるアンモニアの生成が予想される。実験2によって幽門垂中には尿素もウレアーゼも存在しないことを知ったので，仮りにアルギナーゼが存在してもウレアーゼが存在しない以上生成した尿素の分解は起らないのでこの実験は行う必要がないわけであるが，前実験と同時に行ったので一応述べることゝする。酵素液として新鮮な幽門垂の冷水及びグリセリン浸出液の二種を用いL-アルギニン塩酸塩を基質として実験し，ウレアーゼ法及び Fosse のキサントヒドロール法によって尿素を調べたが，検出されなかった。

次にヒスチダーゼについては L-ヒスチヂン塩酸塩を基質とし，アルギニンの場合と同様に操作して実験を重ねたがアンモニアの生成は見出し得なかった。（negative の結果を得たので data は省略する。）

この実験によって幽門垂のアンモニアはアルギナーゼ，又はヒスチダーゼによる生成物でないことを知った。

実験 4. 幽門垂におけるアデナーゼ及びグアナーゼの検索

アデナーゼ，グアナーゼ等の作用により魚肉の自己分解過程中に少量のアンモニアが生成することは前記の通りであり，一方アデニン，グアニンが幽門垂に存在することはさきに筆者[5]が発表した所であるから，表題の実験を行った。即ちアデニン，グアニンを基質としこれに前実験と同様幽門垂の冷水又はグリセリン浸出液を作用せしめたがアンモニアの生成は見られなかった。これによって此等の酵素も関係のない事が判った。

実験 5. 幽門垂における脱アミノ反応の検索

脱アミノ反応によってアミノ酸からアンモニアを生ずる変化は蛋白腐敗の場合の一分解過程であるが，幽門垂には多量の遊離アミノ酸が存在するので，この反応が行われるか否かについて実験した。即ちグリシン L-アラニン，L-ロイシン，DL-トリプトファン，L-チロシン，DL-バリン，L-アスパラギン酸，L-グルタミン酸の各等量混合溶液を基質とし，種々の濃度で実験したが，アンモニアは生成されなかった。

実験 6. 幽門垂におけるグルタミナーゼ及びアスパラギナーゼの検索

グルタミン及びアスパラギンは夫々グルタミナーゼ及びアスパラギナーゼにより加水分解されてグルタミン酸又はアスパラギン酸と一方にアンモニアを生ずる。此等のアマイドは幽門垂内ではまだ確認していないが，アマイド態窒素の量（後報）から考えてこの化学変化も試験しなければならぬと考えた。操作は前記各実験と同様で基質として L-グルタミン及び L-アスパラギンを用い，pH 4～8 の間で実験したが，この実験も亦 negative の成績を与える結果となった。

実験 7. 諸種有機塩基類を基質とする酵素試験

動物体組織のエキス成分として現在まで多くの有機塩基類が検出せられており，その中のいくつかについては以上の実験によってアンモニアの前駆体でないことを証明したが，その他の二，三の物質につきこれを基質として前と同様に幽門垂酵素を作用せしめて実験した結果を玆に一括記述する。

クレアチン，クレアチニンは腐敗すれば分解生産物の一つとしてアンモニアを生成する。前者は筋肉の重要エキス成分であるが幽門垂では両者共殆んど検出されず，又腐敗と自己分解とは同一には論じられないが念のためこれらを基質として同様の実験を試みた結果アンモニアの生成は全く認められなかった。

柿本[6]は幽門垂エキス中にメチルグアニヂン外数種のグアニヂン化合物を検出している。これらの中，アルギニン以外はその分解酵素も分解生産物も殆んど不明である。尤もグアニヂン，メチルグアニヂンの分解によってアンモニアを作ることは式の上では容易である。なおグアニヂンを分解する酵素グアニヂナーゼの存在については記載も見られ，この場合アンモニアが生ずる。よってシアンアマイドとモノメチルアミン塩酸塩から合成したグアニヂン及びメチルグアニヂンの混合物，市販のグアニヂン炭酸塩を基質として同じ実験を試みたが，何れの場合もアンモニアは生成されなかった。

以上の各実験により筆者等が幽門垂中に検出した物質又は既知の肉エキス成分の中，アンモニアの前駆体として想像し得る大多数の物質につき実験を重ねたがその結果は凡て negative であり，従って幽門垂中の多量のアンモニアは本実験で試みた以外の物質を前駆体とする化学変化に由来するものと考えられる。

摘　　要

幽門垂は魚体の他の部分に比較して多量のアンモニアを含み、自己分解によって更に著しく増加するのでその生成機構を研究した。先ずこのアンモニアが既知の酵素反応による生成物かどうかを確かめるため，アミノ酸類、アミノ酸アミド，諸種有機塩基に幽門垂酵素を作用せしめたが，アンモニアの生成は見られなかった。従ってこのアンモニアは本実験に用いた諸物質以外のものを前駆体とするものであると推察される。

この研究は文部省科学研究費によって行ったものである。

文　　献

1) 柏田研一，柿本大壱，堀口吉重： 日水会誌，**18**，147～150 (1952).

2) 太田冬雄： 同上，**17**，309～312 (1952).

3) F.C. Weber and J.B. Wilson : *J. Biol. Chem.*, **35**, 385～410 (1918).

4) 柿本大壱，金沢昭夫，柏田研一： 日水会誌，**19**，729～732 (1953).

5) 柏田研一，柿本大壱： 鹿大水紀要，**2** の **1**，66～70 (1952).

6) 柿本大壱： 日水会誌，**20**，713～716 (1954).

カツオの生化学的研究—IX.
幽門垂におけるアンモニア生成の機構について（2）

柏田研一
（鹿児島大学水産学部）

Biochemical Studies on Skipjack, *Katsuwonus vagans*-IX.
On the Mechanism of Ammonia Formation in Pyloric Coeca (2)

Ken-ichi KASHIWADA

In order to search the mechanism of ammonia formation in pyloric cceca, changes in nitrogen distribution with the progress of autolysis were studied. The results obtained can be summarized as follows.

Soluble nitrogen, ammonia, amino acid especially monoamino acid, non-precipitable nitrogen by Pb-acetate or phosphotungstic acid, increased in the course of autolysis of pyloric coeca ; while precipitable nitrogen by Pb-acetate and organic base nitrogen decreased with the progress of autolysis. By investigating the results in full detail it was ascertained that in other fraction than the Pb-acetate precipitate any possible precursor of ammonia could be detected.

緒言

前報[1]に於ては，幽門垂におけるアンモニアの生成機構を知るために，アンモニアを生成することの知られている酵素反応のうち，主なものにつきこれが幽門垂内で行われるか否かを試験したところ，何れの反応も確認することができなかつた。依つて，このアンモニアはこれまで知られていない酵素反応に由来するものであろうとの推定を下したが，この新酵素反応を探るために次の実験を行つた。

実験 1.

幽門垂の自己分解過程中におけるアンモニアの生成とこれに伴う窒素形態の変化

アンモニアを酵素分解による生産物と見れば，このアンモニアの生成に伴つて幽門垂を構成する他の窒素成分に当然或る変化が起らなければならない。この両者の消長を比較吟味することによつて，アンモニア生成機構の解明に何かの手掛りが得られるのではないかと考えてこの実験を行つた。

試料及び実験方法

枕崎市に陸揚げされた新鮮なカツオから幽門垂を採取，氷冷しつゝ実験室に運び，細目の金網で裏ごしして試料とした。これにトルオール 3 %，チモール 0.2 %を加え，ホモヂナイザーにかけた後 40° C に放置し，一定時間おきに次の定量を行つた。

1. エキスの全窒素　試料の一定量を塩酸微酸性に於て少時煮沸した後，濾液の全窒素を定量した。
2. 揮発性塩基窒素　試料の一定量につき減圧蒸溜法によつて定量し，これをアンモニアとみなす。
3. エキスのアミノ態窒素　1と同様に処理した試料につき，VAN SLYKE法によつて定量した。
4. 酢酸鉛濾液の窒素　1と同様に処理した試料の一定量に 15 %酢酸鉛溶液を加え，生じた沈澱を濾別した後，濾液の全窒素を常法によつて定量した。
5. 燐タングステン酸濾液の全窒素及びアミノ態窒素　4と同様に処理した酢酸鉛濾液に，硫化水素を

1955 年 8 月 9 日受理

通じて鉛を除いた後、塩酸と燐タングステン酸を加え、その濾液の全窒素及びアミノ態窒素を定量した。この場合のアミノ態窒素をモノアミノ態窒素とした。

6. その他の窒素　酢酸鉛沈澱の窒素と燐タングステン酸沈澱の窒素及びヂアミノ態窒素は以上の定量値から計算によつて求めた。この場合全アミノ態窒素とモノアミノ態窒素との差をヂアミノ態窒素とした。

成績並びに考察

定量の結果は次表の通りで，幽門垂の鮮組織に対する窒素量で表わした。

Table 1. Changes of nitrogen distribution in pyloric coeca with the progress of autolysis.

Time of autolysis	Water-soluble-N	Ammonia-N	Total amino-N	Mono-amino-N	Di-amino-N	Lead acetate		Phosphotungstic acid	
						Filt. N	Ppt. N	Filt. N	Ppt. N
hr	%	mg. %	%	%	%	%	%	%	%
0	2.02	88	1.03	0.71	0.32	1.82	0.11	0.94	0.85
3	2.14	95	1.30	0.95	0.35	1.98	0.06	1.15	0.83
7	2.15	110	1.36	1.03	0.33	1.99	0.05	1.24	0.75
12	2.15	111	1.41	1.05	0.36	1.99	0.05	1.29	0.70
18	2.15	111	1.45	1.08	0.37	2.00	0.04	1.30	0.70

まず水溶性全窒素は時間の経過につれて増加し，遂には2%強の一定値に達している。この増加は，幽門垂の酵素によって幽門垂の内容物或はその組織自体が自己分解されることを示すものと見られる。この試料はアンモニアがかなり多量（88 mg %）であるから，鮮度極めて良好とは言い難い。若し，極めて新鮮なものであつたなら，このエキス窒素の増加は一層大きく現われたであろう。このエキス窒素の増加に関連して，酢酸鉛沈澱部の窒素が減少して来るのは極めて当然である。アンモニア窒素は，エキス全窒素と同様漸次増加するが，この実験では速かに最高値に達し，且つその値も筆者が行つた他の多くの場合に較べて小さい。次に，全アミノ態窒素はかなり著しく増加するが，これはやはり幽門垂組織又は内容物が自己分解して行く過程を示すものと思われるが，やゝ面白い現象は，この場合ヂアミノ態窒素の増加は極めて僅少であつて，アミノ態窒素の増加は主としてモノアミノ酸の増加によることである。なお，この場合のアミノ態窒素はVAN SLYKE 法による定量値であるから，アルギニンは全窒素の $\frac{1}{4}$，ヒスチヂンは $\frac{1}{3}$ が定量されるにすぎず，又リジンも ε 位のアミノ基は殆んど反応しないので，表の値からのみ論ずるのは妥当でないが，要するにモノアミノ態窒素とヂアミノ態窒素の変化が著しく異つているというのは異常な現象である。酢酸鉛による沈澱を除いた部分に燐タングステン酸を加えて沈澱部と非沈澱部に分別し，両部の窒素の消長を追跡したところ，前者は次第に減少し，後者は逆に増加を示した。その増減量は非沈澱部の増加量の方が大きい。又，非沈澱部の全窒素量からそのアミノ態窒素量を減じた値は，常にほぼ一定である。ヂアミノ態窒素は前記のように変化が少く，唯極めて僅か増加するに反し，この区分の全窒素量は明らかに減少して行つている。

明らかにされた実験結果は以上の通りであるが，この結果から，可能の範囲でアンモニアの前駆体がどの区分に存するであろうかを考えて見ると，まずアミノ態窒素はアンモニア窒素と同様時間の経過につれて増加する許りでなく，アンモニアが最高に達した後までも増加を続けることなどの点から，アミノ酸はアンモニアの前駆体とは認め難いし，このことは又前報実験5の結果からも了解される。酢酸鉛による沈澱部の窒素は，アンモニアと逆の経過を辿つている。この沈澱物には，蛋白質或はペプトン以上の高分子化合物及び或種の無機物が存在すると考えられるが，上記の変化経路から一応アンモニアの前駆体として考慮の余地がある。

次に，燐タングステン酸沈澱部の窒素もアンモニア窒素と全く相反する変化を示しているので，この区分についてもアンモニアの前駆体を検索して見る必要がある。これは有機塩基の含まれる区分で，その中のあるものについては既に実験し，凡て negative の結果を与えたことは前報の通りであるが，更に詳しく吟味するため少しく，方法を変えて次のような実験を行つた。

実　　験　2.

幽門垂の自己分解過程中における有機塩基類の消長とアンモニア生成との関係

前実験に於てアンモニアと有機塩基区分の窒素が相反する変化を示すことから，前者が後者の分解生成物

ではないかとの想像が許されるので，有機塩基区分を三部に分割し，各区分の窒素変化を追跡した。

試料及び実験方法

前実験と同様に処理した幽門垂を試料とし，これにトルオール3％及びチモール 0.2％を加えて 40°C に放置し，所定時間の後その 50 g をとり，水約 400 cc を加え，塩酸微酸性に於て少時重湯煎上に加熱した後，500 cc のメスフラスコに充し，乾燥濾紙による濾液 50 cc について揮発性塩基窒素を定量した。別に濾液 400 cc に酢酸鉛を加えて生じた沈澱を濾別し，濾液に硫化水素を通して鉛を除き，硫酸と燐タングステン酸を加えて有機塩基類を沈澱せしめる。この沈澱を集め，バリタで分解して燐タングステン酸を除き，炭酸ガスを通じて過剰のバリタを除き，遊離の有機塩基溶液を得，これを次の如く処理し三区分に分けた。

1. プリン塩基区分　上の塩基溶液に硝酸を加えて pH を7に調整し，硝酸銀溶液を加えてプリン塩基を沈澱せしめ，その全窒素を定量してこれをプリン塩基区分の窒素とした。

2. アルギニン区分　プリン塩基区分を分別した濾液に過剰のバリタと硝酸銀溶液を加え，生成した沈澱の全窒素を定量してアルギニン区分の窒素とした。この区分には，アルギニンの外ヒスチヂン，メチルグアニヂン，クレアチン，カルノシンなども若し存在するものとすれば包含される。

3. リジン区分　アルギニン区分の沈澱を取った濾液の全窒素を定量してリジン区分の窒素とした。この区分にはリジンの外，若しコリン，ベタイン，カダベリンなどが存在するとすれば包含される。

成績並びに考察

実験の結果は次表の通りで，前表同様生鮮幽門垂組織に対する窒素量で表わした。

Table 2. Changes of basic nitrogen distribution in pyloric coeca extract with the progress of autolysis.

Time of autolysis	Purin fraction-N	Arginine fraction-N	Lysine fraction-N	Sum	Ammonia-N
hr	%	%	%	%	mg.%
0	0.24	0.51	0.09	0.84	88
3	0.23	0.48	0.09	0.80	95
6	0.22	0.42	0.11	0.75	110
9	0.18	0.39	0.13	0.70	112
18	0.16	0.39	0.14	0.69	111
27	0.16	0.39	0.14	0.69	115

幽門垂エキスの有機塩基を前記の方法によつて三つに分割すると，アルギニン区分の窒素が最も多く，プリン区これに次ぎ，リジン区が最少を示すが，自己分解の進むにつれて各々の差は次第に縮まり，遂にはプリン区とリジン区の窒素はほゞ等しくなり，三者の合計は減少する。この変化の状態から，リジン区に属する物質中には，アンモニアの前駆体の存在する可能性は少いのではないかと考えられる。次に，プリン区の窒素はアンモニアの増加に伴い減少して行くので，この区分中にアンモニアの前駆体を索めて見たくなるが，アデニン，グアニンについては前報の実験で negative の結果を得ているので，これも亦殆んど期待できない。最後に，アルギニン区の窒素はプリン区と同様アンモニアとは逆に減少して行くので，この区分中にアンモニアの前駆体を索めることは不合理ではない。これまで，この区分から分離又は検出せられている物質としては，前記の如く，アルギニン，ヒスチヂン，クレアチン，メチルグアニヂン，カルノシンがある。この中前四者については，前報の実験で negative の結果を得ているので，これを除外すると残るのはカルノシンのみとなる。カルノシンが幽門垂に存在するか否かは不明であり，この物質はヒスチヂンと β-アラニンより成るヂペプチドであるから，後者の分解によつてアンモニアを生じない限り，これもアンモニアの前駆体とはなり得ないが，これまで β-アラニンについてその様な分解形式は知られていないようである。このように見て来ると，幽門垂エキスの有機塩基部に未知物質の存在，並びにこの新物質を基質とし，アンモニアを生成する酵素反応を想定しない限り，この部分にアンモニアの前駆体を索めることの余地は殆んどないのではないかと思われる。

以上の実験1及びその一部を，更に詳しく追及した実験2の結果を顧みて，アンモニアの前駆体として今一つ考えられるものは，前記幽門垂の酢酸鉛沈澱部である。この部分には，前記のように幽門垂成分中最も高分子の物質が含まれていると考えられ，例えばこの区分に含まるべき蛋白質の如きは幽門垂プロテアーゼによつて漸次低分子化合物へと分解されて行くものと推定されるが，この種の分解過程中に果してアンモニ

アが生成するかどうかが問題となるわけで，次にはこれに関連して実験を進めたい。

摘　　要

幽門垂におけるアンモニア生成の機構を探るための一手段として，幽門垂の自己分解過程中に起る窒素化合物の消長について研究し，次の結果を得た。

1. 自己分解過程の進行に伴い，増加するものは水溶性窒素，アンモニア，アミノ態窒素特にモノアミノ態窒素，酢酸鉛非沈澱の窒素，燐タングステン酸非沈澱の窒素で，減少して行くものは酢酸鉛沈澱部の窒素と燐タングステン酸沈澱部の窒素であつた。

2. 而してモノアミノ態窒素の増加に較べ，ヂアミノ態窒素の増加は著しく微量にすぎない。

3. 燐タングステン酸沈澱部をアルギニン区，ヒスチヂン区及びリジン区の三区分に分け，その消長を試験吟味したが，各区分，換言すればこの沈澱部中にアンモニアの前駆体が存在する可能性は少いことを知つた。

4. 結局，アンモニアの前駆体は幽門垂の酢酸鉛沈澱部中に索めることが今後に残される研究事項となつた。

終りに臨み，実験に助力された金沢昭夫氏に深謝の意を表する。なお本研究は，文部省科学研究費によつて行つたものであることを附記し，併せて謝意を表する。

文　　献

1) 柏田研一： 日水誌，21，1062～1065 (1956).

Glycylglycine Dipeptidase に対する金属イオンの影響—II.*

斗ヶ沢宣久・勝又悌三
(岩手大学農学部生物化学教室)

Effects of Metal Ions on the Glycylglycine Dipeptidase—II.

Yoshihisa TOGASAWA and Teizo KATSUMATA

Effect of metals on the activity of glycylglycine (GG) dipeptidase in pyloric caeca of bonito and yellow-tail was investigated. The results were shown as follows :

1. The GG dipeptidase was greatly activated by Co^{++} and Mn^{++}, as those from other sources, and also activated by Mg^{++} as the GG dipeptidase of tunny, while such an activation by Mg^{++} is not known for the enzyme from other sources.

2. When Co^{++}, Mn^{++} and Mg^{++} were 10^{-3} M in concentration, the activity of GG dipeptidase was found to be at a maximum.

3. The GG dipeptidase was inhibited by Zn^{++}, Pb^{++}, Cd^{++} and Ag^{+}, but not by Sr^{++}.

4. The effect of Mg and Mn salts on the activity of GG dipeptidase was not affected by their negative radicals (SO_4'' or Cl').

著者の一人は，曾て魚類の dipeptidase 中 glycylglycine (GG) 並びに leucylglycine (LG) 分解酵素に就いて其の性質を比較し，両酵素の性質上の相違は単に異なる金属イオンによる活性化のみならず，最適 pH，破壊温度，安定度等に於ても異なる事実を認め[1]，又マグロ幽門垂の GG dipeptidase に対する金属イオンの影響を試験し，従来他の場合に見られなかつた Mg^{++} による賦活が認められたので[2]，更にカツオ，ブリ幽門垂の同酵素に就いて同様の試験を行つた。

dipeptidase の特異性の一つとして GG 分解酵素は Co^{++}，Mn^{++} により賦活せられ[3,4,5,6,7,8]，LG 分解酵素は Mg^{++}，Mn^{++} により[5,6,9,10]，又 carboxypeptidase は Mg^{++} により[11,12,13]，prolidase は Mn^{++} により賦活せられるが，Mg^{++} によつては何等影響せられず，Co^{++}，Cu^{++}，Zn^{++} によつて阻害される[14]。又 glycylleucine (GL) の分解は酵素の来源により activator として作用する金属イオンが異り，人間の子宮並びに白鼠筋肉抽出液のものは Zn^{++} により賦活せられるが，Mn^{++}，Co^{++} によつては阻害的に作用せられ，家兎の筋肉に於けるものは Mn^{++}，Co^{++} により賦活せられるが，Zn^{++} により阻害せられ，又豚の小腸粘膜抽出液による GL の分解は抽出液の精製により Mn^{++} により賦活せられるようになる[15]等 dipeptidase に対する金属イオンの作用には興味ある問題が見受けられる。従つて，此の間の機構を明かにすべく，カツオ・ブリ幽門垂の GG 分解酵素に対する各種金属イオンの影響を試験し，尚前報の補足としてマグロ幽門垂同酵素に対する Sr^{++}，Ag^{+} の影響に就き試験した結果に就き報告する。

実験の部

1. glycylglycine の合成

屑繭を conc. HCl で分解，減圧濃縮後無水 alcohol を加え，乾燥 HCl ガスを飽和せしめて glycine-ethylesterchlorhydrate を合成，之を寒剤で冷却しながら 11.5 N NaOH を滴下し，glycineanhydride を合成し，之を 1 N NaOH に溶解し，計算量よりも稍多量の沃化水素酸を加えて，乾固後無水 methanol で洗滌

1955 年 6 月 22 日受理

* 文献（2）を第1報とす。

glycylglycine を合成した。

m.p. ; 215～218° C.　　全窒素 21.27 %（理論値 21.21 %）

2.　基質溶液

glycylglycine を 0.05 M 濃度に 0.1 N (NH_4OH+NH_4Cl) buffer (pH 8.0) に溶解したものを用いた。

3.　塩類溶液の調製

最終濃度が各々 10^{-1} M, 10^{-2} M, 10^{-3} M, 10^{-4} M, 10^{-5} M になる如く下記塩類を調製した。

$CoCl_2 \cdot 6H_2O$,　$MnCl_2 \cdot 4H_2O$,　$MnSO_4 \cdot 4H_2O$,　$MgCl_2 \cdot 6H_2O$,　$MgSO_4 \cdot 7H_2O$,
$ZnSO_4 \cdot 7H_2O$,　$Pb(C_2H_3O_2) \cdot 3H_2O$,　$CdCl_2 \cdot {}^5/_2\ H_2O$,　$SrCl_2 \cdot 6H_2O$,　$AgNO_3$.

4.　実験試料

マグロ *Thunnus orientalis* Temminck et Schlegel

カツオ *Katsuwonus pelamis* Linné

ブ　リ *Seriola quinqueradiata* Temminck et Schlegel

5.　酵素液の調製

a)　幽門垂の外皮膜を除去し，乳鉢で磨砕後その一定量をとり，これに5倍量のグリセリン液（グリセリン 1：水1）を加えて良く攪拌して室温に一昼夜放置し，ガーゼ及び濾紙で濾過し，トルオールを加えて氷室に貯えて実験に供した。

b)　新鮮なマグロ幽門垂を水洗後外皮膜を除去，クロロホルムを飽和せしめた若干の水と共に磨砕，ガーゼで濾過し，濾液に3倍量の 90 % alcohol を加えて生じた沈澱を吸引濾過し，更に 95 % alcohol で洗滌，硫酸デシケーターで乾燥したものを酵素粉末とし，その5%水抽出液を酵素液として使用した。

6.　酵素試験法

Grassmann & Heyde の micro method[16] に準拠し，2 cc のメスフラスコに 0.2 cc の酵素液と各濃度の塩類溶液 0.2 cc を加え，更に基質溶液を加えて全液を 2 cc とし，これより 0.5 cc をとり，pH 8.0 に規整するに要する N/14 KOH の量を求めて残液に加え，更に蒸溜水を加えて全液を 2 cc. とし，トルオールを加え 37°±1° C の恒温水槽中で作用させ，一定時間毎にその 0.2 cc をとり，alcohol 溶液中で生じた -COOH 基を N/100 alcoholic KOH で滴定し，別に blank test を行い，其の差を以つて酵素力を表わした。尚，N/100 alc. KOH 1.2 cc. は加水分解率 100 %に相当する。

結果並びに考察

Fig. 1はカツオ幽門垂グリセリン抽出液を酵素液とし，GG を基質として各種塩類の 10^{-2} M, 10^{-3} M, 10^{-4} M, 並びに 10^{-5} M 濃度の影響を試験した結果であり，Fig. 2はブリ幽門垂グリセリン抽出液を酵素液として上と同じ様に試験した結果を示したものである。即ち GG dipeptidase に対する各種金属イオンの影響はカツオ・ブリ両魚種間で相違は殆ど認められず，前報マグロ幽門垂の場合と同一傾向を示し，Co^{++} は 10^{-2} M では寧ろ阻害的に作用するが，10^{-3} M では著しく賦活し，10^{-4} M でも尚幾分賦活が見られるが，10^{-5} M では殆ど影響なく，Mn^{++} ($MnCl_2 \cdot 4H_2O$) は 10^{-2} M, 10^{-3} M 何れも著しく，10^{-4} Mでも尚幾分賦活するが，10^{-5} M では殆ど影響は認められず，Mg^{++} ($MgCl_2 \cdot 6H_2O$) は 10^{-3} M に於て賦活が見受けられ，10^{-2} M の場合も殆ど同様で 10^{-4} M, 10^{-5} M では殆ど影響が認められなかつた。Zn^{++} の 10^{-2} M では反応液中にコロイド状白色沈澱を生じ，結果を観察し得なかつたが，10^{-3} M, 10^{-4} M で著しく阻害し，10^{-5} M に於ては殆ど影響が認められなかつた。Pb^{++} は Zn^{++} に比し著しい阻害作用は呈さぬが，各濃度何れも阻害的に作用し (10^{-2} M は白沈を生ず)，Cd^{++} も 10^{-2} M では白色沈澱を生じ著しく阻害し，10^{-3} M, 10^{-4} M に於ても Zn^{++} と同程度に阻害する。Sr^{++} は濃度の如何に拘らず 10^{-2}M, 10^{-3} M, 10^{-4} M, 10^{-5} M 何れも殆ど影響なく，Ag^{+} は 10^{-2} M, では白沈を生じ，滴定不可能であり 10^{-3} M, 10^{-4} M, 10^{-5} M 何れも阻害的に作用する。

Fig. 3は前報の補足としてマグロ幽門垂 GG dipeptidase に対する Sr^{++}, Ag^{+} の影響を試験した結果を示したものであるが，カツオ・ブリの場合と殆ど同一傾向が認められた。

Fig. 4はマグロ・カツオ・ブリ幽門垂グリセリン抽出液を酵素液とし，10^{-3} M 濃度の各種金属イオンの相関的関係を示したもので，何れの場合も Co^{++}, Mn^{++} ($MnSO_4 \cdot 4H_2O$) は略ゞ同程度に，又 Mg^{++} (Mg

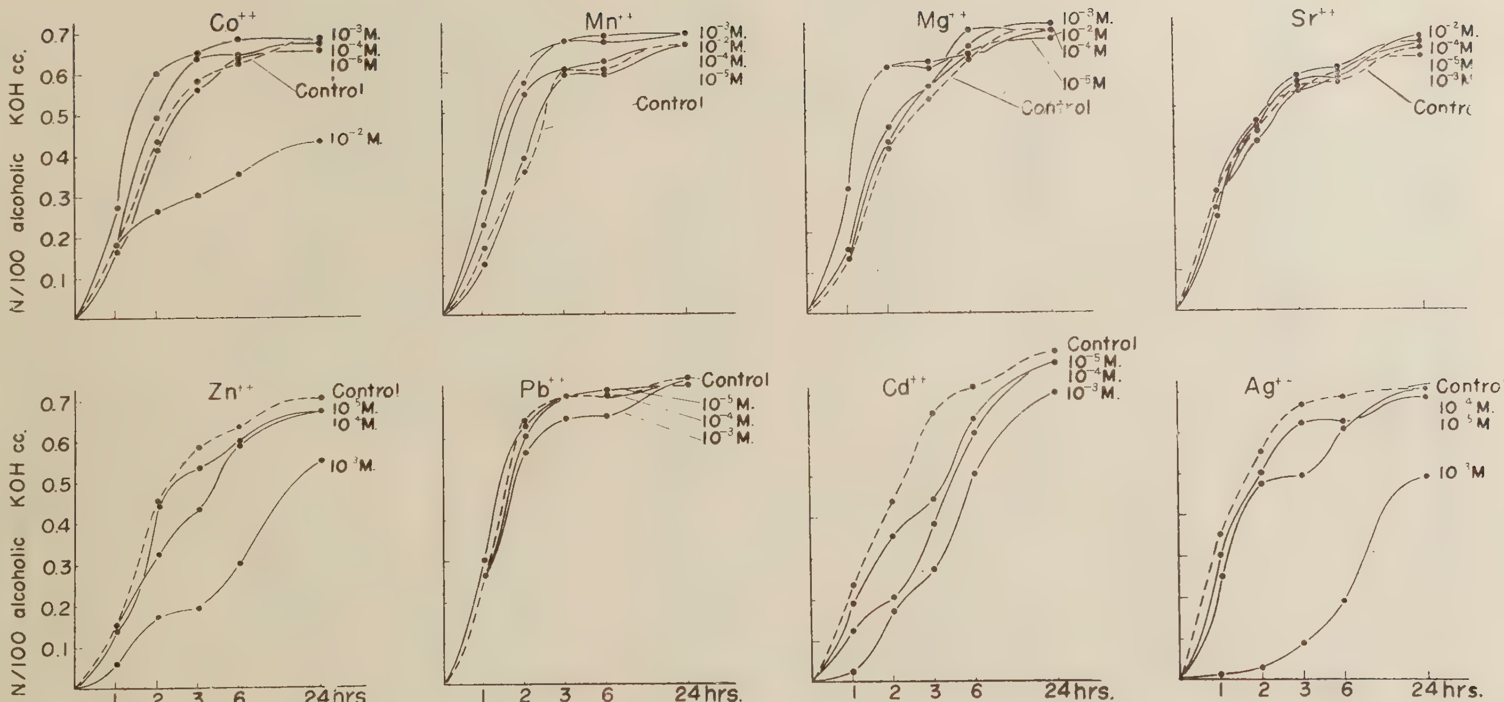


Fig. 1. Effects of metal ions on the GG dipeptidase, extracted from the pyloric caeca of bonito with glycerin.

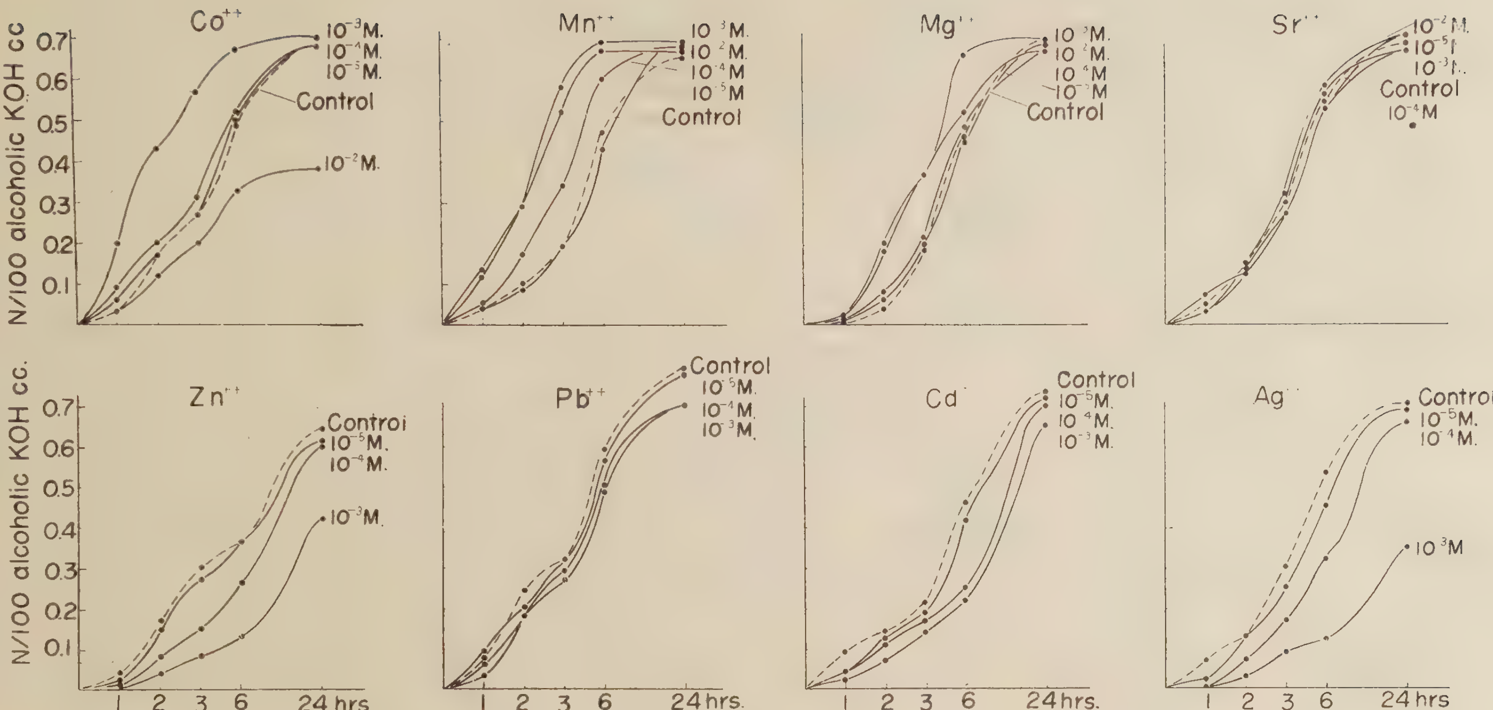


Fig. 2. Effects of metal ions on the GG dipeptidase, extracted from the pyloric caeca of yellow-tail with glycerin.

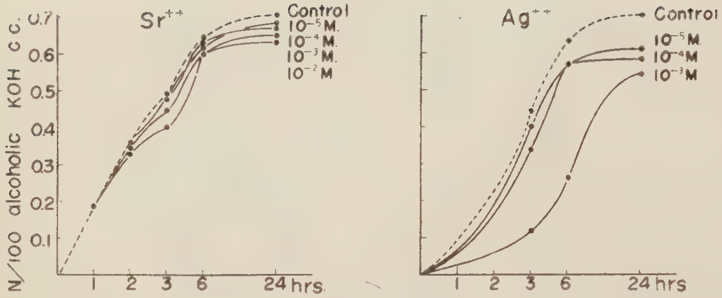


Fig. 3. Effects of Sr^{++} and Ag^{+} on the GG dipeptidase, extracted from the pyloric caeca of tunny with glycerin.

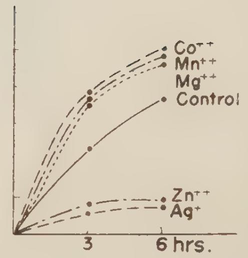


Fig. 5. Effects of metal ions on the GG dipeptidase, extracted from the dried powder of pyloric caeca of tunny with distilled water.

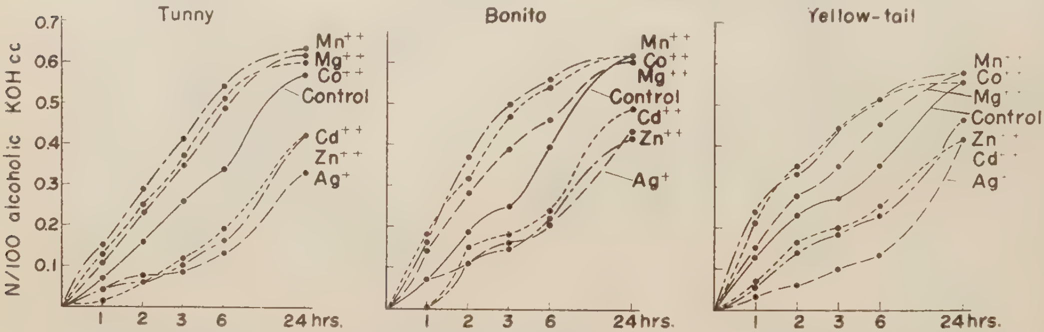


Fig. 4. Effects of metal ions (10^{-3} M) on the GG dipeptidase, extracted from the pyloric caeca of tunny, bonito and yellow-tail with glycerin.

0.2 cc. enzyme solution, 0.2 cc. salts solution, 0.2 cc. distilled water and 1.4 cc. substrate (0.05 M GG) were mixed in 2 cc. volumetric flask, then held at 37°±1°C. under pH 8.0 in 0.1 M ammonium buffer. Carboxyl group which were liberated by hydrolysis were measured on 0.2 cc. samples by Grassmann and Heyde's method.
N/100 alc. KOH 1.05 cc. =100 % Hydrolysis.

$SO_4 \cdot 7H_2O$）は之等より幾分弱いが，GG dipeptidase を賦活し，阻害的に作用する Cd^{++}, Zn^{++}, Ag^{+} 相互の間には判然たる区別はつけ得られなかつた。

Fig. 5は幽門垂グリセリン抽出液と対称して、マグロ幽門垂酵素粉末の5%水抽出液を酵素液として GG 分解酵素に対する各種金属イオンの影響（10^{-3} M）を実験した結果を示したものであるが、グリセリン抽出液の場合と殆ど同じ様な結果が得られた。

従来の GG dipeptidase に対する金属イオンの影響を見るに，Berger & Johnson[3] によればホーレン草，キャベツの GG dipeptidase は Mn^{++} により賦活せられるも ***Asp. parasiticus***, ***Penicillium terrestre***, ***P. citrinum*** の GG dipeptidase は Mn^{++} による影響はなく，麦芽並びに雛 Erepsin は Co^{++}, Mn^{++} により非常に賦活されると。又 Smith[5,6] によれば、家兎の心臓，子宮，血清中の GG dipeptidase は Co^{++} により、又豚の小腸粘膜、家兎の筋肉，白鼠の筋肉，人間の子宮の同酵素は Co^{++} 並びに Mn^{++} により賦活されると報ぜられている。

即ち従来の報告によれば，殆どが Co^{++} 或いは Mn^{++} による賦活のみが見受けられるが，Mg^{++} による影響は殆ど無く，寧ろ阻害的に作用する場合もある。

従つて，前報のマグロの場合に認めたと同様カツオ・ブリの幽門垂 GG dipeptidase に対する Mg^{++} の作用は従来他の同酵素に見受けられなかつた特異的なものと考えられる。

要　約

1. カツオ・ブリ幽門垂グリセリン抽出液中の GG dipeptidase に対する金属イオンの影響を試験した結

果，従来の動植物組織中の GG dipeptidase と同様 Co^{++}, Mn^{++} により著しく賦活せられ，Co^{++} は 10^{-3} M で最も著しく，10^{-4} M に於ても幾分賦活が認められるが，10^{-2} M では寧ろ阻害的に作用し，Mn^{++} は 10^{-2}, 10^{-3} M で賦活し，10^{-4} M, 10^{-5} M では殆ど影響が認められなかつた。

2. Mg^{++} による作用は他の GG dipeptidase に見受けられぬ特異的なもので 10^{-2}, 10^{-3} M で著しい賦活が認められた。

3. Mn, Mg 塩類の影響は其の塩化物，硫酸塩には無関係で，陰イオンには影響されなかつた。

4. Sr^{++} は殆ど影響なく，Zn^{++}, Pb^{++}, Cd^{++}, Ag^{+} は凡て阻害的に作用する。

5. マグロ幽門垂酵素粉末の水抽出液中の GG dipeptidase に対する金属イオンの影響はグリセリン抽出液の場合と同様の結果が得られた。

6. マグロ幽門垂グリセリン抽出液 GG dipeptidase に対する Sr^{++}, Ag^{+} の影響はカツオ・ブリの場合と同様で，Sr^{++}は影響なく Ag^{+} は阻害的に作用する。

文　　献

1) 斗ケ沢宣久： 岩手大学農学部報告，**2**, 59 (1954).
2) 斗ケ沢宣久・高橋悌三： 岩手大学農学部報告，**2**, 66 (1954).
3) J. Berger, M. J. Johnson : *J. Biol. Chem.*, **130**, 641, 655 (1939).
4) J. Berger, M. J. Johnson : *J. Biol. Chem.*, **133**, 157 (1940).
5) E. L. Smith : *J. Biol. Chem.*, **173**, 553, 571 (1948).
6) E. L. Smith : *J. Biol. Chem.*, **176**, 9, 21 (1948).
7) E. Maschmann : *Biochem. Z.*, **319**, 28 (1941).
8) M. J. Johnson, J. Berger : "Advances in Enzymol.", **2**, 69 (1942).
9) M. J. Johnson, W. H. Peterson : *J. Biol. Chem.*, **116**, 515 (1936).
10) E. L. Smith, M. Bergmann : *J. Biol. Chem.*, **138**, 789 (1941).
11) E. L. Smith : "Enzymes and Enzyme Systemes", 59 (1951).
12) E. L. Smith, H. T. Hanson : *J. Biol. Chem.*, **176**, 997 (1948).
13) J. B. Sumner : "The Enzyme", **Vol. 1, part 2**, 831 (1951).
14) E. L. Smith, M. Bergmann : *J. Biol. Chem.*, **153**, 627 (1944).
15) E. L. Smith : *J. Biol. Chem.*, **173**, 553 (1948)., **176**, 9 (1948).
16) W. Grassmann, W. Heyde : *Z. physiol. Chem.*, **183**, 32 (1929).

ビタミンKの抗菌作用機構—III. *Escherichia coli* の酵素活性に及ぼすビタミンKの影響

北御門 学
(九州大学農学部水産化学教室)

Studies on the Mechanism of Antibiotic Action of Vitamin K—III. Effect of Vitamin K on the Enzymatic Activities of *Escherichia coli*

Manabu KITAMIKADO

This investigation was undertaken to study the effects of four compounds, K_3, K_5, K_3-Na-bisulfite and 2 Methyl-1, 4-naphthohydroquinone diacetate, on the enzymatic activities of the intact cells of bacteria.

(1) Succinic-, formic-, ethanol- and lactic-dehydrogenation was remarkably inhibtied by the presence of 14 μg./ml. of K_3, K_5, and 24 μg./ml. of K_3-N_a-bisulfite.

(2) Oxidative deamination of L-glutamic acid, L-alanine and tryptophan was inhibited by 30 μg./ml. of K_3, K_5, and 50 μg./ml. of K_3-Na-bisulfite.

(3) 2 Methyl-1, 4-naphthohydroquinone diacetate had little effect on the dehydrogenation and the deamination at any degree of concentration tested.

(4) On catalase- and hydrogenase-activity, reduction of nitrate to nitrite, no marked inhibitory action of the four compounds was recorded even at a relatively higher degree of concentration as 100 μg./ml.

(5) Decarboxylation of L-arginine and L-lysine was slightly accelerated even when the concentration of vitamin K compounds was as great as 150 μg./ml.

緒　言

著者等は前報[1]に於てビタミンKの抗菌作用は活性SH基の阻害に原因すると報告した。SH基を必須とする酵素は酸化剤，メルカプチド形成剤，アルキル化剤等を用いた研究[2]によつて次第に明かになつてきたので，ビタミンKが微生物の如何なる酵素系を阻害するかという問題はかなり推定し得る様になつた。然しながらSH基の複雑性を示す報告[2]も亦多く，SH基阻害剤によつて惹起される微生物の物質代謝の錯乱は未だ明確には判明していない。

酵素に対するキノーンの作用として琥珀酸脱水素酵素を阻害するという報告[3]と焦性葡萄酸酸化酵素を阻害するという報告[4]とがあるが，キノーンとSH化合物との反応生成物は条件で異る為[5] SH基阻害剤としてキノーンはあまり用いられていない。ビタミンK化合物としてはK_3が甘藷のβ-アミラーゼを阻害するという報告[6]がある。然しながら抗菌作用の立場から細菌の酵素作用に及ぼす影響を論じたものは無い様である。

実験及び考察

ビタミンK化合物としてK_3，K_5，K_3-Na-bisulfite，2 Methyl-1,4-naphthohydroquinone diacetateの4化合物を用いた。使用細菌懸濁液は脱炭酸作用の検討にはpH 5.0に，其他はpH 7.2に調整した3％カゼイン水解物に30°C，20時間培養した *Escherichia eoli* の蒸溜水懸濁液を用いた。

1955年7月28日受理

a) チトクローム系及び b) 補酵素系に及ぼす影響

a) に属するものとして蟻酸及び琥珀酸脱水素作用、b) に属するものとしてアルコール及び乳酸脱水素作用を Thunberg のメチレン青法[7]によつて検討し，その結果を第1〜2表に示した。K_3 及び K_5 は 14 μg/ml の低濃度で、K_3-Na bisulfite は 28 μg/ml で、これ等の脱水素作用を阻害したが' 2 Methyl-1, 4-naphthohydroquinone diacetate は阻害せず，抗菌力と脱水素作用阻害力とは一致している。

Table 1. Effects of vitamin K compounds on methylene blue decolorization time by *Escherichia coli* at 30°C. (formic acid substrate).

	Sort of vitamin K *	I	I	II	II	III	III	IV	IV	—
						(ml.)				
	200 μg./ml. V.K	0.5	1.0	0.5	1.0	0.5	1.0	0.5	1.0	—
Thunberg's	1/10,000 M.B.	0.5								→0.5
tube main	M/15 Phosphate buffer (pH 7.0)	1.0								→1.0
compartment	M/50 Formic acid	1.0								→1.0
	Dist. water	0,5	—	0.5	—	0.5	—	0.5	—	1.0
Side arm	Suspension **	1.0								→1.0
Decolorization time	min.	27	44	26	41	22	33	19	20	21

* Vitamin K :
I ············ K_3
II ············ K_5
III ············ K_3-Na-bisulfite
IV ············ 2 Methyl-1, 4-naphthohydroquinone diacetate

** Suspension : Dry matter 170 μg./ml.

Table 2. Effects of vitamin K compounds on methylene blue decolorization time (succinic, lactic and ethanol substrates).

V.K μg./ml. \ M/50 Substrate		Na-succinate	Na-lactate	Ethanol	Dist. water
I	14	95 min.	101 min.	70 min.	135 min.
	28	152	145	132	270
II	14	95	105	65	130
	28	138	152	115	250
III	14	65	80	45	101
	28	97	115	62	132
IV	14	53	51	40	92
	28	58	52	40	94
Contr. (None of V.K)		55	52	40	95

Same experimental condition as with Table 1.

琥珀酸[8]及びアルコール脱水素酵素[9]はその活性に SH 基を必須とするが，乳酸脱水素酵素は SH 基を必須としない[10]。乳酸脱水素酵素，チトクローム酸化酵素，カタラーゼ等は SH 基を必須とする酵素ではないにも拘らず，或種のメルカプチド形成剤によつて阻害されることが報告[11]されているので，乳酸脱水素酵素がビタミン K によつて阻害されてもビタミン K が他の SH 基阻害剤と比較して SH 基に対する特殊性が低いわけではない。

c) 酸化酵素系に及ぼす影響

カタラーゼは $2H_2O_2 \rightarrow 2H_2O + O_2$ の反応ばかりでなく $AH_2 + H_2O_2 \rightarrow A + 2H_2O$ の共軛酸化をも触媒するので酸化酵素系として検討した。Warburg 検圧計のフラスコ内で細菌細胞をビタミンKに曝した後，

[illegible]過酸化水素と混合し，[illegible] 30 分間に発生する酸素量を藤田法[12]によつて測定した。第3表に示す如く 100 μg/ml のビタミン K によつてカタラーゼ作用は阻害されなかつた。

d) 其他の酸化還元酵素系に及ぼす影響

E. coli は強力な hydrogenase を有するので排気後水素ガスを充塡した THUNBERG 管内に於けるメチレン青の褪色時間を測定した。第4表に示した如く hydrogenase 活性は 100 μg/ml のビタミン K によつて阻害されなかつた。

又 *E. coli* は水素供与体の存在下に硝酸を亜硝酸に還元する硝酸還元酵素を有するが，前述の如く hydrogenase はビタミン K の影響を受け難いので，hydrogenase によつて活性化された水素を用いる硝酸還元作用を検討した。水素ガスを充塡した THUNBERG 管内で 30°C, 1 時間に硝酸塩より生成した亜硝酸塩を GRIES-ILOSVAY の試薬で比色定量した結果を第5表に示した。

E. coli は生成した亜硝酸を更にアンモニアに迄還元し得るので，この条件下に於ける亜硝酸の還元を知る為に同条件下に於て硝酸塩を亜硝酸塩に置換して，30 °C, 1 時間後の残存亜硝酸塩を定量したが殆んど[illegible]ていなかつた。故に第5表より硝酸還元作用はビタミン K によつて殆んど影響されないと結論し得よう。

e) アミノ酸酸化作用に及ぼす影響

アミノ酸酸化作用は脱アミノを伴うので上述の反応系から除外した。グルタミン酸，L-アラニン及びトリプトファン酸化作用に及ぼすビタミン K の影響を検討する為に，WARBURG 検圧計により消費された酸素量を測定して第 1～3 図の結果を得た。図には 80 μg/ml になる如くビタミン K を添加した場合を示したが，K_3, K_5 は 30 μg/ml から，K_3-Na-bisulfite は 50 μg/ml から阻害作用を呈するが，脱水素作用の場合と同じ様に 2 Methyl-1,4-naphthohydroquinone diacetate は阻害しなかつた。



Fig. 1. Effects of vitamin K compounds on O_2 uptake by *Escherichia coli* (L-glutamic substrate).
WARBURG's flask content
Main compartment
1 ml. M/15 phosphate buffer (pH 7.0)
1 〃 M/25 substrate
0.2 〃 20% KOH (center well)
1 〃 Vitamin K sol.
Side arm
1 ml. Cell suspension (dry matter 0. 34mg.)
Gas phase : air Temperature : 30°C.
Fig. 1～3 ●――● None of V. K
○――○ (Ⅰ) 80 μg. /ml. K_3
●……● (Ⅱ) 80 μg. /ml. K_5
○- - -○ (Ⅲ) 80 μg. /ml. K_3-Na-bisulfite
○-・-・-○ (Ⅳ) 80 μg. /ml. 2 Methyl-1,4-naphthohydroquinone diacetate



Fig. 2. Effects of vitamin K compounds on O_2 uptake (L-alanine substrate).
Same experimental condition as with Fig. 1.

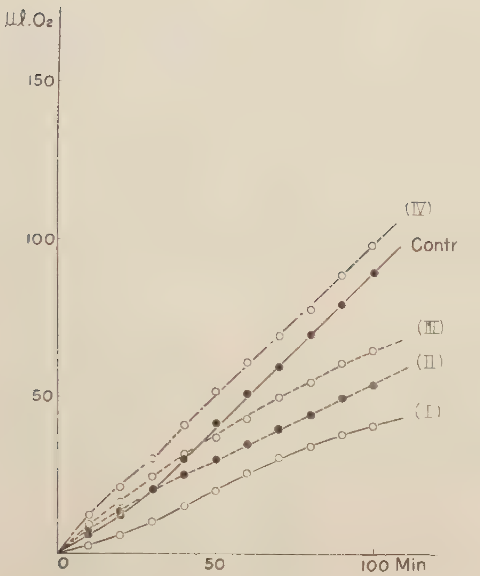


Fig. 3. Effects of vitomin K compounds on O_2 uptake (tryptophan substrate).
Same experimental condition as with Fig. 1.

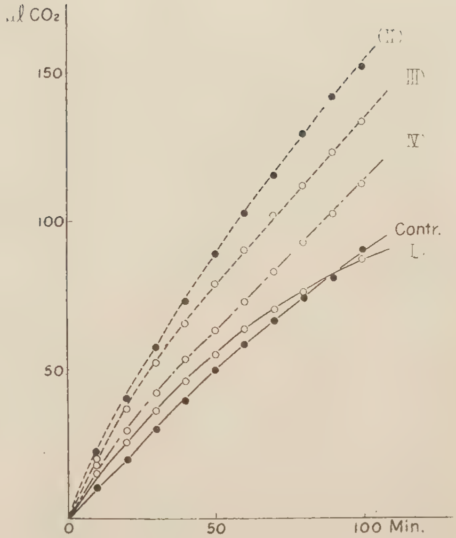


Fig. 4. Effects of vitamin K compounds on CO_2 production (L-arginine substrate).
WARBURG's flask content
Main compartment
1 ml. M/15 phosphate buffer (pH 4.5)
1 〃 M/25 substrate
1 〃 Vitamin K sol.
Side arm
1 ml. Cell suspension (dry matter 0.10mg.)
Gas phase : N_2 Temperature : 30°C.
Fig. 4～5 ●——● None of V.K
○----○ 150 μg./ml. K_3
●……● 150 μg./ml. K_5
○……○ 150 μg./ml. K_3-Na-bisulfite
○-•-•-○ 150 μg./ml. 2 Methyl-1, 4-naphthohydroquinone diacetate.

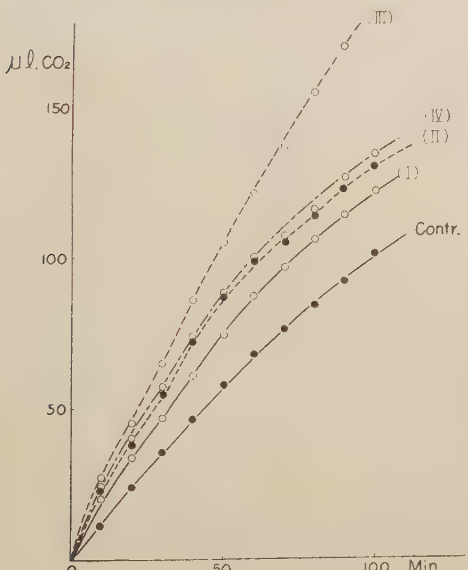


Fig. 5. Effects of vitamin K compounds on CO_2 production (L-lysine substrate).
Same experimental condition as with **Fig. 4.**

L-グルタミン酸脱水素酵素及びL-アラニン酸化酵素はSH酵素であり，SH毒によって阻害されることはすでに報告されている[13]

f) アミノ酸脱炭酸作用に及ぼす影響

L-アルギニン及びL-リジン脱炭酸作用を検討した．窒素ガス中で発生する炭酸ガスをWARBURG検圧計で直接法により測定した結果を第4～5図に示した．が，これ等の脱炭酸作用は150 μg/mlのビタミンKによっても阻害されず，むしろ促進される傾向があった。

総　　括

細菌が示す基本的作用である酸化，還元，脱アミノ，脱炭酸作用等に及ぼすビタミンKの影響を，SH基阻害の観点から検討し次の結果を得た。

Table 3. Effects of vitamin K compounds on O_2 production in the presence of H_2O_2 at 30°C.

	Sort of V.K	I (ml.)				II (ml.)				III (ml.)				IV (ml.)				— (ml.)			
Warburg's	300 μg./ml. V.K	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	—	—	—	—
flask	Dist. water	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1.0	1.0	1.0	1.0
main	M/15 Phosphate buffer (pH 7.0)	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
Compartment	Suspension *	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
Side arm	M/50 H_2O_2	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
Exposure time** (min.)		0	30	60	90	0	30	60	90	0	30	60	90	0	30	60	90	0	30	60	90
O_2 produced μl./30 min.		133	134	140	136	136	140	151	130	135	142	140	140	138	132	129	139	135	144	138	132

* Suspension ; Dry matter 57 μg./ml.
** Cells were exposed to vitamin K compound in main compartment, and then H_2O_2 was added.

Table 4. Effects of vitamin K compounds on methylene blue decolorization time in H_2-gas phase at 30°C.

Thunberg's	1/10,000 M.B.	(ml.)	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
tube	M/15 Phosphate buffer (pH 7.0)	(ml.)	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0
main	275 μg./ml. V.K	(ml.)	2.0(I)	2.0(II)	2.0(III)	2.0(IV)	—
compartment	Dist. water	(ml.)	—	—	—	—	2.0
Side arm	Suspension (dry matter 170 μg./ml.)	(ml.)	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
Decolorization time		(min.)	49	44	46	47	48

Table 5. Effects of vitamin K compounds on the reduction of nitrate to nitrite in H_2-gas phase at 30°C.

Thunberg's	M/25 KNO_3	(ml.)	2	2	2	2	2	2
tube	M/15 Phosphate buffer (pH 7.0)	(ml.)	2	2	2	2	2	2
main	350 μg./ml. V.K	(ml.)	2 (I)	2 (II)	2 (III)	2 (IV)	—	—
compartment	Dist. water	(ml.)	—	—	—	—	2	3
Side arm	Suspension (dry matter 170 μg./ml.)	(ml.)	1	1	1	1	1	—
Nitrite produced	10^{-5}Mol/1 hr		7.5	7.6	6.8	6.7	7.0	0

1) チトクローム系及び補酵素系に属する脱水素作用は 14 $\mu g/ml$ の K_3, K_5 及び 24 $\mu g/ml$ の K_3Na-bisulfite によつて著明に阻害された。

2) 酸化的脱アミノ作用は 30 $\mu g/ml$ の K_3, K_5 及び 50 $\mu g/ml$ の K_3-Na-bisulfite によつて阻害された。

3) 比較的抗菌力の弱い 2 Methyl-1, 4-naphthohydroquinone diacetate は上記の反応を阻害しなかつた。

4) カタラーゼ作用, hydrogenase 作用, 硝酸還元作用はビタミン K によつて殆んど影響されなかつた。

5) アミノ酸脱炭酸作用はビタミン K によつて阻害されず, むしろ促進される傾向があつた。

終りに御指導と御校訂を頂いた富安行雄先生に心から謝意を表する。

文 献

1) 北御門学・森閑男 : 本誌, **20**, 147 (1954); **20**, 237 (1954).

2) E. S. Guzman Barron "Advances in Enzymology," **11**, 201 (1951).

3) V. R. Potter and K. P. DuBois : *J. Gen. Physol.*, **26**, 391 (1943).

4) E. S. Guzman Barron : *J. Biol. Chem.*, **113**, 695 (1936).

5) M. Schubert : *J. Am. Chem. Soc.*, **69**, 712 (1947).

6) 別所秀子 : 同志社女子大年報, **4**, 156 (1954).

7) W. W. Umberit, R. H. Burris and J. F. Stauffer: "Manometric Techniques and Tissue Metabolism", p. 105 (1951).

8) F. G. Hopkins and E. J. Morgan : *Biochem. J.*, **32**, 611 (1938).

9) T. Wangner-Jauregg und E. F. Möller : *Z. physiol. Chem.*, **236**, 222 (1935).

10) E. S. Guzman Barron and T. P. Singer : *Biol. Chem.*, **157**, 221 (1945).

11) E. S. Cook, G. Perisutti and T. M. Walsh : *J. Biol. Chem.*, **162**, 51 (1946).
E. S. Cook and G. Perisutti : *J. Biol. Chem.*, **167**, 827 (1947).

12) A. Fujita und T. Kodama : *Biochem. Z.*, **232**, 20 (1931).

13) T. P. Singer and E. S. Guzman Barron : *J. Biol. Chem.*, **157**, 241 (1945).

魚類の肉質変化に関する生化学的研究―VI*
コイ筋肉の凍結による myosin 区 ATPase 活性と関連成分の変化について

齊藤　要・日高富男
（鹿児島大学水産学部）

Studies on the Biochemical Change in the Fish Muscle—VI. On the Changes in Amount of Myosin Fraction-N, ATP, Free SH Group and ATPase Activity of Carp Muscle by Treatment of Freezing and Thawing

Kaname SAITŌ and Tomio HIDAKA

In this paper the authors dealt with the changes of carp muscle derived by the treatment of air freezing (−20°C) and thawing (25°C) in the following elements, the amount of myosin fraction-N, ATP, free SH group and ATPase activity.

1) Through the process of freezing the apparent amount of myosin A fraction-N, obtained from carp muscle, seemed to increase by a little extent. The ATPase activity of myosin fraction showed hardly any change during the storage of the muscle within 24 hours at −20°C. The amount of SH group in the muscle showed comparatively rapid increase at the beginning of the freezing, while ATP showed not a little decreasing tendency. But any considerable change in the above mentioned substances was unperceived during about 3 hours after the freezing.

2) At the first stage of thawing, the apparent amount of myosin A fraction-N in the muscle showed an increase, but a comparatively rapid reduction appeared at about 3 hours after the treatment. The separation of myosin fraction became almost impossible after 20～25 hours of thawing.

The Qp value per 1 mg of myosin A fraction-N, obtained from the muscle at the beginning of thawing, showed a reducing tendency. In this stage, the amount of ATP and SH group in the muscle decreased at a rapid speed, but at the the putrefaction term the amount of the latter increased again.

3) In the case of thawing by direct immersion to the trichloroacetic acid, the amount of ATP in the muscle was larger than in the case of direct air contact thawing. (See Table 1)

The amount of free inorg.-P in the mixed solution of ATP and purified myosin fraction showed not a little increase by being treated through the process of freezing, but the same solution, being stored at 0°C during the same stage, showed no considerable increase of inorg.-P.

前報[2]ではコイ筋肉の鮮度による ATPase 活性度の変化について検討したが，本報では引続き凍結解凍処理による精製 myosin 区窒素量及び ATPase 活性の変化と，基質である筋肉中の ATP 量並に ATPase 作用の活性基と考えられる遊離 SH 基の消長等について検討し若干の知見を得たので報告する。

実験材料及び実験方法は前報[2]と略々同様である。

実験結果及び考察

1. 凍結処理による変化 直殺したコイ肉の一定量を約 −20°C で空気凍結を行い，各所定時間毎に直ちに解凍（解凍所要時間は筋肉 10 g 量で5分以内）して myosin A 区の2回沈澱区分の窒素量及び ATPase

1955 年6月 14 日受理
* 1955 年4月日本水産学会年次大会発表

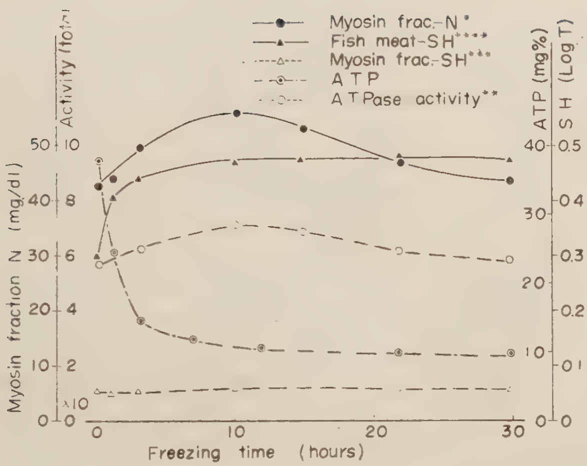


Fig. 1. Changes in amount of myosin A fraction-N, ATP, free SH group and ATPase activity of carp muscle by treatment of freezing.

* N mg. of twice ppted. fraction per 100 cc. of KCl extract obtained by extracting 10 g. muscle for some 15 to 20 min.

** Qp per 100 cc. of the KCl soln. as above mentioned.

*** Chromaticity of SH group (Ferricyanide method) denoted by −Log T per 5 cc. of the KCl solution as above mentioned.

**** −Log T per 5 cc. of the 10 times dilution of the extract obtained frem muscle (HITACHI electric photmeter, Model EPO-A, Filter 460 mμ., Thickness of solution layer in cell ; 10 mm.)

活性度並に筋肉中の ATP 及び SH 基の変化を求めた結果は Fig. 1 の如くである。

myosin A 区窒素量及び ATPase 活性度： 窒素量は前報[2] 同様の 出法で得た KCl調製液 100cc 当りの窒素量を求め凍結時間による相対的な変化を比較した。

即ち見掛上の窒素量は死直後凍結してから 24 時間頃迄は，極めて緩慢であるが当初に於て幾分増加する傾向が見られた。この現象は凍結に伴う筋肉の組織学的な状態変化，例えば氷晶生成による筋鞘相互間の分離或は筋肉細胞の損傷等によつて特定操作による抽出が容易になる事も一因と考えられる。次に所定時間凍結した筋肉より抽出した各 myosin 区の単位量当りの力価は略々同様であり。従つて抽出される myosin 区に関する限りこの程度の凍結条件ではその酵素活性を失わないことが知られた。一方調製した myosin 区溶液はこの程度の凍結により著しく変性する事[4)5)] より考えて myosin 区は native な筋肉中では in vitro の場合より安定化されているものと思われる。

ATP 量及び遊離 SH 基量： 筋肉中の ATP は凍結初期において急速に減少し，凍結完了（約3時間後）迄に過半量が消失し 10 時間後頃からその減少が極めて緩慢となり，筋肉を凍結した場合その当初においては 0°C 附近に放置した場合よりも ATP の分解が促進される傾向が認められた。既にⅢ報で述べた如く in vitro の観察では myosin 区の ATPase 活性の最適温度は作用時間 5 分間では 30～35°C であり，0°C でもその 15 % 前後の作用力を示す。従つて筋肉の凍結初期にみられる ATP の分解も ATPase 作用によるものとすれば，筋肉の凍結点に達する迄の間にその作用が進行する可能性もある。その際凍結の進行に伴い体液の塩類濃度及び pH が変化し，更に体液に共存する ATP と myosin の濃度が高くなつて，酵素基質結合体を形成する機会が多くなり活性が促進されることも考えられるがこれ等の点については尚検討中である。

次に SH 基量は筋肉を室温に放置した場合には一般に死直後の ATP 分解期には減少し，腐敗期に入り増加する傾向であつたが，凍結処理をした筋肉ではその初期において一般に増加する傾向が認められ，凍結完了後は一昼夜程度の放置では殆んど増減を示さない様である。凍結試料では SH 基量の変化がしばしば不同となる事を経験したが，これは後述の如く解凍操作中にそれが減少する傾向にあるためと思われる。従つて解凍所用時間を可及的短縮する必要を感じ本実験では何れもその時間を 5 分以内に限定した。一方定量法自体にも検討の必要を感じている。次に所定時間凍結した筋肉より抽出した myosin A 区の単位量当りの SH 基量は凍結前後において殆んど変化が認められなかつた。

2. 解凍放置による変化 直殺したコイ肉の一定量を約 −20°C で空気凍結を行い，22 時間後之を 25°C で解凍放置した場合の各所定時間における myosin A 区窒素量及び ATPase 活性度，並に筋肉中の ATP, SH 基量の変化を求めた結果は Fig. 2 の如くである。

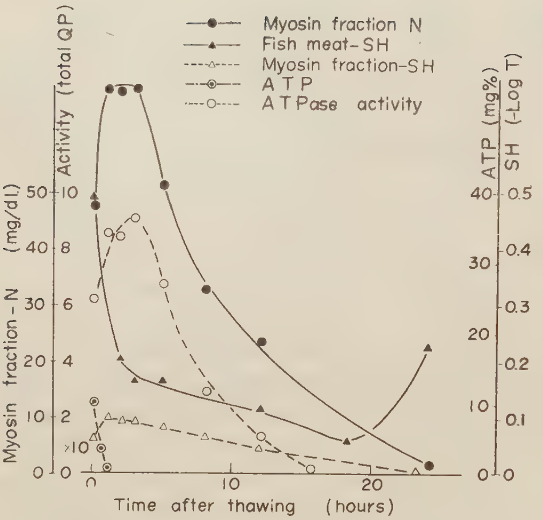


Fig. 2. Changes in amount of myosin A fraction-N, ATP, free SH group and ATPase activity of carp muscle as the function of time after thawing at 25°C.

myosin A 区窒素量及び ATPase 作用： 筋肉の凍結初期においては前述の如く myosin 区の収量が幾分増加する様であるが解凍放置の初期には更に増加し，その後減少し約23時間後には精製区分の沈澱分離が不可能となつた。この初期における myosin 区収量の増加は凍結解凍処理による筋肉の組織学的な状態変化によつて同一操作による抽出が容易になつた事も一因と考えられるが，一方この時期においては抽出区分の単位窒素量当り Qp の値が幾分減少する事より活性を有しない窒素化合物の混入が多くなつた可能性も考えられる。又この場合の窒素量の変化は一般に直殺後直ちに同一温度に放置した筋肉の減少傾向に比べて急激であつた。これは凍結肉の肉質変化が解凍後早く進行すると云う事と関連性がある様にも思える。

ATP 及び SH 基量： 凍結処理により著しく分解された ATP は更に解凍放置により急速に減少し，1時間半前後には完全に消失した。しかもその消失は I 報で述べた苦悶死筋肉を 25°C に放置した場合よりも極めて迅速に起る結果となつている。SH 基は解凍と同時に約3時間後迄に急激に減少し，その後次第に緩慢となり腐敗期には再び増加する結果となつている。解凍時に SH 基等が激減する現象は冷凍鯨肉の解凍に際して既に天野等[3]が認めている。

次に延髄刺殺したコイ肉を 25°C に放置した場合は約3時間後に硬直現象が明瞭に見られたが，直殺後 −20°C で凍結し5時間後之を 25°C で解凍した試料には1時間後迄は ATP の存在が認められるに拘わらず，肉眼的には解凍硬直の現象は不明瞭であつた。即ち解凍硬直の現象は凍結初期における ATP の急減，或は組織破壊等により自然硬直よりも硬直度は弱いものと思われるが，この点については尙検討中である

3. 解凍処理条件による ATP 量の相違 凍結初期に見られる ATP の分解は凍結進行中に起るものと思うが更に解凍操作中にも可成り分解する可能性も考えられる。次に解凍中における ATP の分解を出来るだけ避けるため凍結筋肉を 9.3 倍量の 10 % 三塩化酢酸液中で解凍したものと，自然解凍したものとについて ATP 量を比較した結果は Table 1 の如くである。この場合の解凍所要時間は約 15 分である。

Table 1. Changes in amount of ATP in the carp muscle by treatment of thawing.

Time kept frozen (hours)	0	1	2		3	
	(Control)	TCA*	TCA	Air**	TCA	Air
ATP (mg %)	38.0	18.7	12.5	6.7	9.5	3.6
Ratio of rest (%)	100.0	49.3	32.9	17.6	25.0	9.5

* Thawing by direct immersion of trichloroacetic acid,
** by direct air contact at 25°C. during about 15 min.

この結果三塩化酢酸液中で解凍した筋肉は自然解凍したものより ATP 含量が2倍程度多く，短時間の自然解凍でも可成りの ATP が分解する事は明らかである。又筋肉 ATP 量の凍結時間による変化を三塩化酢酸中で解凍した試料の ATP 残存率より考察すれば，筋肉中の ATP は凍結初期主として氷晶生成期迄に分解するものと考えられ，又この条件下では解凍時の ATP の分解は凍結初期のそれに比し少い事が知られた。

4. ATPase 反応液の凍結処理による ATP の分解 以上の各実験は凍結解凍処理による筋肉中の ATP

Table 2. Changes in amount of inorg.-P in the mixed solution of ATP and purifeid myosin A fraction by treatment of freezing (γ).

Treatment	Cold storage (0°C.)	(−20°C.) Freezing
Myosin soln.	5.0	6.0
ATP soln.	22.5	21.5
Mixed soln. *	33.5	59.5

* 〔ATP〕 : 1×10^{-3} Mol/Lit., 〔$CaCl_2$〕 : 2.2×10^{-3} Mol/Lit., Protein-N : 0.15 mg./cc.

量の変化を追究したものであるが、Ⅲ報[2]で述べた ATPase の反応条件で myosin A 区 KCl 溶液（蛋白態窒素 0.15 mg cc）に ATP (1×10^{-3} Mol Lit）を添加して凍結（−20°C、20 分間直接凍結）した場合の ATP 分解の有無を遊離無機燐量の変化により求めた結果は Table 2 の如くである。酵素或は基質を夫々添加しない反応液を凍結した場合、液中の無機燐量は殆んど変化しないが、両者の混液を凍結した場合には無機燐が明らかに増加し、而もその増加率は混液を 0°C に同時間放置した場合よりも大きい，尚この関係は筋肉の場合にも認められた。又本報では省略したが myosin 区以外の抽出区分、卵白及び Casein と ATP との混液を凍結しても分解作用は殆んと認められなかった事より考え筋肉或は反応液の凍結による ATP の分解は ATPase 作用によるものと思う。この場合凍結操作は液相が固相に変る過程において反応系に一種の刺戟作用を与え、これにより活性化が誘発されるものと考えられる。尚電気的刺戟を与えた場合の影響については目下検討中である。

以上述べた筋肉の凍結解凍処理による ATP 及び SH 基の消長は勿論その処理条件により可成り異ると思われるが、現在冷凍法は魚肉の鮮度保持の手段として最も普遍的な方法であつて、その究極の目的は魚肉を生活時に近い状態で保つことであるとすれば生活エネルギーの根源である ATP の破壊を極力避ける凍結法の確立が望ましい事となる。

要　　約

コイ肉の凍結（−20°C 空気凍結）解凍（25°C）処理による精製 myosin A 区窒素量及び ATPase 活性の変化と筋肉中の ATP 及び遊離 SH 基の消長について検討した。

1）凍結処理により筋肉の見掛上の myosin A 区窒素量は幾分増加する傾向が認められ，その ATPase 活性は 1 昼夜程度の放置では殆んど変化がないものと考えられる。凍結初期においては筋肉中の ATP は急激に減少し，SH 基量は増加の傾向を示したが、両者共に凍結完了後 24 時間頃迄は殆んど変化しなかった。

2）解凍放置の初期には見掛上の myosin A 区窒素量は増加するが其後比較的速かに減少し遂にはその沈澱分離が困難となつた。解凍初期には myosin A 区窒素量 mg 当りの ATPase 活性（Qp）値は幾分減少する傾向が認められた。又解凍初期に筋肉中の ATP 及び SH 基量は急激に減少し，後者は腐敗期には再び増加する傾向を示した。本実験では一般に解凍硬直の現象を肉眼的に判定する事は困難であつた。

3）凍結筋肉を三塩化酢酸液中で解凍した場合は同一解凍所要時間で、自然解凍したものより ATP 含量が多く，又本実験では解凍時の ATP の分解は凍結初期のそれに比し少い傾向が得られた。

4）ATPase の反応条件に基づき，myosin A 区と ATP との混液を凍結すれば ATP 分解による遊離無機燐の増加が明らかに認められ，而もその場合は 0°C に同時間放置した混液より分解率は大きい。又他の蛋白質と ATP の混液或は myosin 区液及び ATP 液を各々単独で凍結した場合には殆んど無機燐の増加が認められない事より，筋肉或は反応液の凍結による ATP の分解は ATPase 作用によるものであり，而も凍結が一種の刺戟となり ATPase 作用が活性化されるものと考察した。

本研究に際し御指導を賜った本学高田幸二教授並に実験結果について御討議を頂いた東海区水研石田正男博士，松本重一郎氏，岡田稔氏に深謝の意を表する。

文　　献

1）斎藤　要・日高富男：本研究第 I 報　鹿大水産学部紀要　4. 88（1955）
2）斎藤　要・日高富男：日水誌　21，1025（1956）
3）天野慶之・富谷章子・木下良雄・樽見みつ子：日本水産学会臨時大会（1952.9）発表.
4）J.M.SNOW：*J.Fish. Raes. Bd.Can.*, 7. 599（1950）
5）斎藤要・日高富男：日本水産学会臨時大会（於長崎）発表（1955）

煉製品製造残滓の利用に関する研究—Ⅱ. 鶏の生長及び産卵に及ぼすアラ液化物の長期投與の効果*

富山哲夫・米　康夫・広渡一之
（九州大学農学部水産化学教室）

小柳武夫・内田正五郎・徳田寿男
（福岡県種鶏場）　（日本水産株式会社）

Studies on Utilization of Trimmings Wasted in Manufacturing Cooked Fish Paste—Ⅱ. A long-term experiment on effect of solubilized trimmings on growth and egg production.

Tetuo TOMIYAMA, Yasuo YONE, Kazuyuki HIROWATARI, Takeo KOYANAGI, Shogoro UCHIDA and Hisao TOKUDA

Chicks fed a diet supplemented with the solubilized trimmings at a 2 or 3 per cent dry basis level for 8 to 32 weeks showed a significant growth response, (Table 1 and 2). The difference in body weight between the chicks fed the solubilized trimmings and the control chicks fed only all-vegetable protein ration was significant at a 5% level (Table 1). It is to be noted that earlier start of egg production has been found in the experimental group (Table 2). It has been shown that chicks which were raised on the ground without using battery-house gave an increase of 14 per cent in the growth rate after 9 weeks by feeding an all-vegetable protein ration with the solubilized trimmings at a 3 per cent level (Table 3).

Ⅰ 緒　　言

著者等[1]はアラ液化物が鶏の生長促進，産卵率向上，産卵開始期の短縮等に効果を有することにつき既に報告した。しかしこれらの実験は断片的に比較的短期間観察したものである。従つて本研究では孵化後数日より産卵開始期に至るまでの長期に亘つて育雛産卵試験を行つた。この研究結果によりこれ迄の著者等の結論の妥当性を確証しえたので，こゝに報告する。

Ⅱ 実験方法

1. アラ液化物

供試したアラ液化物は日本水産戸畑工場で 1952 年 6 月及び 1953 年 8 月に竹輪製造の際にえられたアラを富山の液化法[1]で製造したものであつて，その化学的組成は Table 1 の脚註に示した。

2. 初生雛より産卵までの試験

供試雛は 1952 年 6 月 17 日に孵化した白色レグホン種の♀である。60羽から体重の揃つた強健な雛 20 羽を選び，10 羽を 1 区とし，6 月 23 日より 9 月 30 日迄飼育した。10 月 1 日に各区の平均体重に近い雛を

1955 年 7 月 18 日受理

* 本研究の大要は昭和 28 年 4 月東京に於ける日本水産学会年会に発表した。

5羽づつ選び飼育した。なお6月23日より9月3日迄は室内においた金網底をもつバッテリーに収容し、9月4日以降は戸外の金網底或は竹格子底をもつバッテリーで飼育した。なお体重は毎週給餌前に測定した。また各個体の産卵能力を不明であったから、トラップネストを用いて各個体の産卵開始日及び産卵数を求めた。

試験区には6月23日より9月30日迄は基本飼料に乾物として3%のアラ液化物を添加したもの，10月1日以後は乾物として2%を添加したものを与えた。なお基本区には試験区と蛋白量を近似させるため大豆粕を3%添加した。基本飼料は6月23日より9月30日迄はTable 1の脚註に示した基本飼料Aを用いた。9月4日より9月30日までは葉酸、ビタミンK_3及びレシチンの投与を中止し，基本飼料の50%に相当する大根葉を与えた。10月1日以降は基本飼料Bに大根葉、龍舌菜を50%混和したものを与えた。水及び飼料は充分量投与し，自由攝取とした。

3. 育雛試験

供試雛は1953年10月8日に孵化した白色レグホン種の♀雛で，1区50羽とした。孵化後3週間は箱型電熱育雛箱で飼育し，その後は実際的な飼育法，即ち“地飼い”で飼育した。毎週給餌前に体重を測定した。試験区にはTable 3の脚註に示した基本飼料に乾物として3%のアラ液化物を添加し，対照区には試験区の蛋白量と近似させるために大豆粕を6.5%増補した。またいづれの区にも緑餌として基本飼料の15%相当量の大根葉を与えた。なお給水及び給餌は自由攝取とした。

Ⅲ 結果及び考察

A 生長及び産卵率に及ぼす効果

供試鶏10羽の内，試験区の1羽及び対照区の1羽が試験開始後8週迄に斃死し，また試験区の1羽はるであつた。試験開始後第8週迄の各区の平均体重はTable 1に示してある。それをみると飼育開始後第4週（7月21日）の増加体重比率は基本の100に対し，アラ液化物区は118であり，第8週は113であつた。またアラ液化物区の増加体重と基本区のそれとの差に対するt検定の結果では，5%の危険率で有意の差が認められる。しかし飼料効率では両区の間に著るしい差は認められなかつた。

Table 1. Response of the growth to the solubilized trimmings.

No. of Chicks	Supplements	Amt. of supplements per 100g diet. Dry basis	Average 4-weekly body weight in gm.				"t" test**	Total gain in weight over total feed intake (%)
			Initial*	After 4 wks	After 8 wks	Average gain		
8	Solubilized trimmings †	3	41.1±1.7§	211.0	403.0±14.6	361.9±14.1	2.19	19.7
9	None	—	40.2±1.4	184.6	358.8±14.1	318.6±13.9		21.9

* The experiment was started on June 23, 1952. ** n=15, ε=0.05, t_0=2.131.
† V. B_{12} content, 352 mμg%; Moisture, 47.1%; On dry basis, crude protein, 75.5%; salt, 8.1%.
Birds were fed the basal diet A which was composed, in per cent, of corn 51, soybean 25, rice bran 10, wheat embryo 10, $CaCO_3$ 3, manganized salt 0.5, folic acid 0.4mg, 2-methyl-naphtoquinone 0.1mg, lecithine 1g. § standard error of the mean

次ぎに10月1日以降供試した5羽の内，各区ともそれぞれ1羽づゝ試験期間中に斃死したので，4羽の全試験期間中の平均体重曲線及び各個体の体重をFig. 1及びTable 2に示した。アラ液化物区の生長は3週より基本区の生長を凌駕し，飼育開始後35日後（7月28日）の増加体重比率は基本の100に対し116，114日後（10月15日）は118であつた。なお生長の極限に近づいた224日後（1953年2月1日）は109で，なお体重差が認められた。4羽の産卵成績及

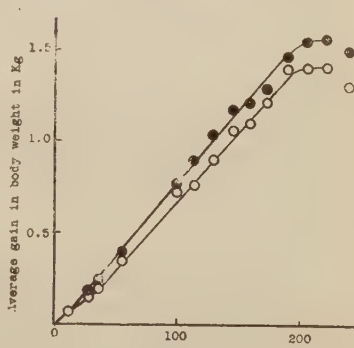


Fig. 1. Growth response to supplementation of solubilized trimmings.
● 2～3% solubilized trimmings
○ no supplement

Table 2. Response of the growth and egg production to the solubilized trimmings.

Supplements	Chicks No.	Body weight in gm. after Initial	35 days	114 days	224 days	Jan. 6—July 31, '53 6-weekly production of egg 0-6	6-12	12-18	18-24	24-30	Total number	Date of start of egg production
Solubilized trimmings 2~3%	7058	36	256	995	1750	4	19	35	20	0	404	Feb. 7
	4719	42	320	840	1600	13	13	32	28	14		Jan. 21
	4740	43	244	840	1350	18	17	35	25	14		Jan. 12
	8653	49	240	1090	1650	18	19	30	29	21		Jan. 7
None*	4607	38	213	790	1500	18	23	34	33	13	394	Jan. 6
	4736	35	230	800	1600	16	20	32	35	7		Jan. 9
	4667	42	253	900	1300	0	14	32	30	18		Mar. 2
	8046	43	218	700	1400	0	12	29	21	7		Mar. 2

* To equalize the protein-content, 3 per cent of soybean were added.
Birds were fed the basal diet A from June 23 to Sep. 30 and the basal diet B after Nov. 1. Basal diet A was shown in Table 1. Basal diet B was composed, in per cent, of corn 47, rice bran 10, wheat bran 10, soybean 30, $CaCO_3$ 3. Basal diet B was supplemented with radish- and *Lactica indica*-leaves at a 50 per cent level.

び産卵開始日は Table 2 に示す通りで，アラ液化物区はいづれも2月初旬までに産卵を開始したのに対し，基本区は4羽の内，2羽が3月に産卵を開始した。従ってアラ液化物区の産卵開始後6週間の産卵数は基本区を凌駕していた。一般に産卵率が高くなる6週（2月 16 日）以後は差がなくなり，全試験期間の産卵率では顕著な差が認められなかつた。

B　生長に及ぼす効果

従来の生長試験は少数羽の雛について行ったが，本研究では1区に 50 羽の雛を用い，実際的な飼育法，即ち“地飼い”で飼育した。育雛試験の結果は Table 3 に示す通りで，第5週まではアラ液化物区の生長は基本区のそれより僅かに劣っていたが，第6週以後基本区の生長を凌駕し，第9週に於ける増加体重比は基本区の 100 に対し 114 を示した。

Table 3. Response of the growth to the solubilized trimmings.
(Oct. 8 —Dec. 10, '53)

No. of chicks	Supplements	Amt. of supplements per 100g diet Dry basis	Body weight[1)] in gm Initial	After 3 wks	6 wks	9 wks	Average gain	Total gain in weight over total feed intake (%)
50	Solubilized trimmings	3.0	38	101.1	244.4	437	399	27.8
50	None[2)]	—	38	105.0	241.6	387	349	24.4

1) The body weight was determined not indivdually but as a group. 2) To equalize the protein content, 6.5 per cent of soybean were added.
Basal diet used was composed, in per cent, of corn 52, soybean meal 30, rice bran 15, $CaCO_3$ 2.5, NaCl 0.5. Birds were raised on the ground without using battery house.

Ⅳ 総　　括

1.　アラ液化物を乾物として3％添加した飼料を孵化後1週間目から8週間投与すると，著明な生長促進効果がみられ，対照区に比し5％の危険率で有意の差が認められた。

2.　乾物として2～3％のアラ液化物を添加した飼料を白色レグホン種の孵化後1週間目より産卵開始迄約 32 週間投与すると，著明な生長促進効果がみられた。また対照区より早く産卵を開始し，産卵率では産卵開始後6週間の産卵数に差がみられた。

3.　50羽の白色レグホン種の雛に乾物として3％のアラ液化物を添加した飼料を孵化直後より9週間投与

すると，顕著な生長促進効果がみられた。

本研究は昭和 27 年度及び 28 年度の文部省科学試験研究費で支弁した。なお試料の調製及び動物の飼育に協力された七井良平次郎、佐伯種敏、久米利治の諸氏並びに材料を提供された日本水産株式会社に深謝の意を表する。

V 文　　献

1. 富山哲夫・米康夫・広渡一之・原田悠三・小柳武夫・内田正五郎・徳田寿男：本誌 21，941，(1955).

煉製品製造殘滓の利用に関する研究 ―Ⅲ. 換羽期の産卵率低下の防止に対するアラ液化物の効果*

富山哲夫・米 康 夫・広渡 一之
（九州大学農学部水産化学教室）
小柳武夫・内田正五郎・徳田寿男
（福岡県種鶏場） （日本水産株式会社）

Studies on Utilization of Trimmings Wasted in Manufacturing Cooked Fish Paste―Ⅲ. Effectiveness of solubilized trimmings to prevention of lowering of the egg production in molting season.

Tetuo TOMIYAMA, Yasuo YONE, Kazuyuki HIROWATARI, Takeo KOYANAGI, Shogoro UCHIDA and Hisao TOKUDA

It has alraedy been reported that the solubilized trimmings at a 3 per cent level is effective to increase the egg production[1]. All the experiment, however, have been made in seasons favorable to the egg production. The present experiment has been undertaken to see whether or not the trimmings will show preventative effect to the reduction of egg production in autumn. It has clearly been shown that a decrease of egg production during the molting season could be prevented by the addition of the solubilized trimmngs at a 2.9 per cent level.

I 緒 言

さきに著者等[1]はアラ液化物が産卵率の向上，産卵開始期の短縮等に効果を有することを確認した。しかし産卵試験は産卵率の最も高い期間に行ったものである。従って産卵率の低下する換羽期に於ける産卵にどの程度の効果を示すかを知ることは産業的に重要である。更にまた養鶏用の所謂完全飼料には一般に15～20%の魚粉を必要とするが，現在の魚粉の価格ではかように多量を使用することは経営上困難である。従って他の適当なAPFの給源を用うることによって魚粉の使用量を低減できれば，経営上極めて有利となるに違いない。依て著者等は上記のような見地から本研究を行った。

Ⅱ 実 験 方 法

1. アラ液化物

供試したアラ液化物は日本水産戸畑工場で 1952 年 6 月に竹輪製造の際にえられたアラを富山の液化法[1]で製造したものであって，その化学的組成は Table 1 の脚註に示してある。

2. 産卵試験

試験鶏は 1952 年 2 月 11 日及び 23 日に孵化した白色レグホン種で，試験開始前 2 ケ月間は一般の成鶏用飼料で戸外に飼育したものの内，体重 1,300～2,000g の強健なもの 20 羽を選び，1 区に 5 羽を用いた。竹格子底にした戸外のバッタリーに収容し，7 月 8 日より試験飼料の投与を開始し，7 月 12 日には各区と

1955 年 7 月 18 日受理

* 本研究の大要は昭和 28 年 4 月東京に於ける日本水産学会年会に発表した。

も約半数が産卵を開始したので産卵数の測定を始め，10 月 31 日迄経続した。なお各個体の産卵能力は不明であつたから，Trap nest を用いて各個体の産卵数を求め，駄鶏は産卵率の計算から除外した。

Table 1. Composition of diets used.

Groups of expt.	Fish meal	Corn	Wheat bran	Soybean meal	Salt	Solubilized trimmings	Crude protein %
Fish meal	20	40	40	—	0.5	—	19.1
Solubilized trimmings 2.9% +Fish meal 10%	10	45	40	—	—	5	16.6
Solubilized trimmings 2.9% +Fish meal 5%	5	45	40	5	—	5	16.7
Soybean meal	—	40	40	24	0.5	—	21.5

* V. B_{12} content, 352mμg.%; Moisture, 47.1%. On dry basis, crude protein, 75.5%; salt, 8.1%. All the diets were supplemented with radish- and *Lactica indica*-leaves at a 17 per cent level.

試験区としては魚粉 20% 含有の標準区，魚粉を 10% としてアラ液化物 2.9%（乾物として)添加した区魚粉を 5 %としてアラ液化物 2.9%添加した区及び大豆粕 24% 含有の APF を含まない区を設けた。アラ液化物は適量の水にとかし試験配合飼料中に均一に混和して与え，投餌量は各区とも 1 日 1 羽当り大約120g とした。なお各試験区の蛋白含量を近似させるためにアラ液化物 2.9%―魚粉 5 %区のみに大豆粕を 5 %添加した。また各試験区とも大根葉及び龍舌菜を飼料の 17% 相当量与えた。各試験区の飼料配合率及び蛋白含量の詳細は Table 1 に示してある。

Ⅲ 結果及び考察

産卵試験の結果は Table 2 及び Fig. 1 に纒めた通りである。産卵効果を時期的に解析するために，10 日

Table 2. Biweekly change of egg production in each experimental group.

(July 12～Oct. 21, '52)

Supplements	Chicks No.	Biweekly production of egg 0–2	2–4	4–6	6–8	8–10	10–12	12–14	14–16	Total number (%)	8-14wks egg production number (%)	Date of start of egg production	Days of no egg production
Fish meal 20%	923	10	10	9	8	8	5	4	11	195 (43.5)	55 (32.7)	VII/ 9	0
	924	10	9	7	0	0	2	1	0			VII/ 8	73
	926	0	10	9	11	11	12	11	10			VII/26	0
	927	6	9	10	1	1	0	0	0			VII/14	68
Solubil. trimmings 2.9%+ Fish meal 10%	602	14	6	12	10	12	2	9	10	254 (56.6)	83 (49.4)	VII/ 8	12
	903	11	10	7	10	9	6	9	9			VII/11	0
	904	0	8	9	11	10	11	9	7			VII/29	0
	905	0	7	11	13	6	0	0	6			VII/30	39
Solubil. trimmings 2.9%+ Fish meal 5%	912	0	0	7	9	8	0	0	0	229 (51.1)	91 (54.1)	VIII/ 9	46
	915	6	7	6	7	8	0	4	11			VII /19	26
	916	13	10	9	9	13	12	12	11			VII / 8	0
	917	0	3	8	11	10	12	12	11			VIII/ 4	0
Soybean meal 24%	939	11	8	1	0	0	0	0	7	236 (42.1)	49 (23.3)	VII /11	75
	940	12	13	12	8	0	2	5	12			VII / 9	24
	941	11	12	11	10	6	0	1	0			VIII/14	46
	942	0	2	8	3	6	9	5	12			VIII/ 7	12
	943	0	2	11	11	8	1	6	10			VII / 6	27

The renewal of feather was observed to take place in each group from 8— to 14—weeks, and the degree of the renewal ran parallel with decrease in egg production.

間以上産卵を中止した日数（産卵中止日数と仮りに呼ぶ），全試験期間中の産卵率及び全般に換羽が観察された期間中（9月6日より 10 月 17 日迄）の産卵率を算出した。先づ産卵中止日数について比較すると，アラ 2.9%-魚粉 10% 区が 51 日で最も小さく，アラ 2.9%-魚粉5%区が 72 日，魚粉 20% 区が 141 日大豆粕 24% 区が 184 日であつて，アラ液化物の効果が顕著であつた。全試験期間中の産卵率はアラ2.9%一魚粉 10% 区が最高で，アラ 2.9%-魚粉5%区がこれに次ぎ，魚粉 20% 区及び大豆粕 24% 区は遙かに劣り，第1位のものの 74% に相当した。換羽期間，即ち試験開始後8週より 14 週までの産卵率をみると，アラ 2.9%一魚粉 5% 区が最も優り，アラ 2.9%-魚粉 10% 区がこれに次ぎ，魚粉20% 区は蛋白含有量が前2者に比し多少多いに拘らず産卵率は遙かに劣り，また蛋白含有量の最も多い大豆粕 24% 区は極めて低値で，第1位のものゝ 43% にしか達しなかつた。こゝに注目される点はアラ液化物を添加した区はいずれも換羽期間の産卵率は全期間の産卵率と大差がなかつたのに対し，魚粉区及び大豆粕区では換羽期間の産卵率は全期間の産卵率より著しく低下したことである。但し完全区であるべき魚粉区の成績が劣つたのは，良質の魚粉を選ぶように注意したので，恐らくは Stick water が充分に圧搾除去された魚粉を使用したことに原因したのであろう。

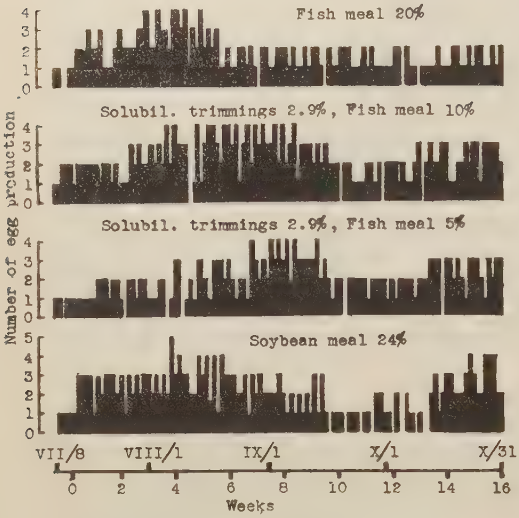


Fig. 1. Change in egg production during molting season.

Ⅳ 総　　括

標準の完全飼料の魚粉 20% を 10% 及び5%に減じたものにアラ液化物を乾物として 2.9% 添加した飼料で，1952 年2月孵化の白色レグホン種を産卵開始直前の7月初めより 10 月末迄 16 週間飼養して，産卵率の変動を比較検討した結果によると，換羽期の産卵率低下が著明に防止された。

本研究は昭和 27 年度の文部省科学試験研究費で支弁した。本研究の遂行に多大の補助を与えられた原田悠三，管原憲典，奥山俊司，七井良平次郎，久米利治の諸氏並びに材料を提供された日本水産株式会社に深謝の意を表する。

Ⅴ 文　　献

1）富山哲夫・米康夫・広渡一之・原田悠三・小柳武夫・内田正五郎・徳田寿男：本誌，21，941（1955）．富山哲夫・米康夫・広渡一之・小柳武夫・内田正五郎・徳田寿男：本誌，21，1086（1956）．

煉製品製造残滓の利用に関する研究—IV. 残滓液化物による産卵上昇効果に関する実地試験

富山哲夫・米 康夫・広渡一之
（九州大学農学部水産化学教室）
小柳武夫・内田正五郎・徳田寿男
（福岡県種鶏場） （日本水産株式会社）

Studies on Utilization of Trimmings Wasted in Manufacturing "Kamaboko", a Cooked Fish Cake—IV. A large-scale experiment on the effectiveness of solubilized trimmings on egg production.

Tetuo TOMIYAMA, Yasuo YONE, Kazuyuki HIROWATARI, Takeo KOYANAGI, Shogoro UCHIDA and Hisao TOKUDA.

In all the experiments on egg production which have hitherto been carried out[1-3], use was made of rather small number of hens and of the battery house.

The present study has been carried out on one-year old hen without using the battery house and under conditions as practical as possible.

The results obtained can be summarized as follows :

1. The supplementation of the solubilized trimmings at a 5 % dry basis level gave more egg production as compared with that of fish meal at a 10 per cent level.

2. The partial replacement of the fresh trimmings with the solubilized trimmings yielded more or less a favorable effect on egg production.

3. The supplementation of the solubilized trimmings at a 2.5 per cent dry basis level gave egg production similar to the control group, while a little increase was observed from July to September.

I 緒 言

著者等[1)2)3)]は 1951 年秋より 3 年間鶏の生長及び産卵率に及ぼすアラ液化物の効果について検討した結果，アラ液化物の顕著な APF 効果を認めた。これまでの産卵試験は全て少数羽の鶏を用い，バッテリーで飼育して行つた。従つてバッテリーを用いず実際的な飼育法で産卵試験を行い，その効果を検討することは本研究の完成に当り意義あることゝ考え，福岡県内の養鶏業者と協同して産卵数に及ぼすアラ液化物の効果を魚粉，生魚屑（アラ）或いは大豆粕の効果と比較した。本試験は長期間に亘り実施する予定であつたが，1953 年 6 月の大水害により養鶏業者の大半が多少の被害を受け，中止した業者があつたことは残念であつた。しかしその結果は本研究の成果の実用化に有益な指針を含んでいるので，以下にその概要を報告する。

II 実 験 方 法

1. アラ液化物の製造

本試験に用いたアラ液化物は日本水産戸畑工場で竹輪製造の際に得られた生魚屑（採肉残渣，一般にアラ

1955 年 7 月 30 日受理

と称す）を富山の液化法[1]で安定化したもので，水分 50 %，粗蛋白 42.3 % のものである。

2. 魚粉との比較試験

本試験は次に示すように2回行った。試験（A）では Table 1 の脚註に示す基本飼料にアラ液化物を乾物として 5 %（粗蛋白 4.2 %）添加し，対照の魚粉区には基本飼料に 10 %（乾物として約 8.5 %，粗蛋白約 5 %）の魚粉を添加した。供試鶏は 1952 年 2 月 10 日に孵化した白色レグホン種の2年鶏である。アラ液化物区には 32 羽，魚粉区には 37 羽を用いた。飼育室としてはアラ液化物区のものは2坪の運動場を有する1坪の室4個に収容し，魚粉区は6坪の運動場を有する 4坪の室1個に収容し，1953 年2月より4月迄飼養管理した。

試験（B）の添加量は試験（A）と同じであるが，基本飼料は Table 1 の脚註に示したように試験（A）で用いたものとは多少異っていた。供試鶏は 1952 年 3 月 29 日に孵化した白色レグホン種の2年鶏である。いづれの区もそれぞれ1坪の運動場を有する1坪の室5個に飼育し，1953 年 2 月より5日まで飼養管理した。

3. 生魚屑との比較試験

本試験は次に示すように2回行った。試験（C）では試験区に Table 2 の脚註に示す基本飼料に乾物として 2.5 % のアラ液化物と 10 % の生魚屑を添加し，対照の生魚屑には 15 % の生魚屑を添加して比較した。供試鶏は 1952 年 2 月 28 日に孵化したロード，ロック及びニューハンプシヤ種の2年鶏で，飼育にはいづれの区も6坪の室を2個使用した。

試験（D）の試料添加量は試験（C）と同じである。供試鶏は 1951 年3 月 20 日に孵化した白色レグホン種の3年鶏である。いづれの区もそれぞれ12坪の運動場をもつ10坪の室で飼育した。

4. 大豆粕との比較試験

本試験は福岡県種鶏場で行った。試験区には日本配合飼料 K.K. の配合飼料（組成不明）に乾物として，2.5 % のアラ液化物を添加し，対照区には試験区と蛋白量を近似させるため大豆粕を 4 % 添加した。供試鶏は1952年3月5日に孵化した白色レグホン種の2年鶏である。いづれの区もそれぞれ10坪の運動場をもつ6坪の室2個に収容し飼養管理した。

以上いづれの試験に於ても給餌量は1日1羽当り大約 120 g とした。

Ⅲ 結果及び考察

1. 魚粉との比較

産卵率は Talbe 1 に示す通りで，試験（A）の場合，試験開始時の産卵率は対照の魚粉区がアラ液化物区より優れていたが，以後はアラ液化物区が魚粉区を凌駕した。試験（B）の場合は試験（A）の場合と同じく

Table 1. The effect of supplementation of solubilized trimmings on egg preduction as compared with that of fish meal.

	Supplements	No. of hen[4]	Rate of egg production: Feb.' 53	March	April	May	Average rate of egg production
A[1]	Solubilized trimmings[3] 5 %	32	70.9	76.0	74.1	——	73.6
	Fish meal 10 %	37	74.7	74.5	70.8	——	73.3
B[2]	Solubilized trimmings 5 %	64	70.8	79.1	77.3	76.0	75.8
	Fish meal 10 %	55	68.6	80.3	72.4	74.0	73.8

1) Basal diet used was composed, in per cent, of a commercial ration A 40, barley 16, wheat bran 16, rice bran 8. The green leaves were supplemented at a 15 % level. 2) Basal diet used was composed, in per cent, of a commercial ration B 65, barley 19, wheat bran 10, rice bran 6. The green leaves were supplemented at a 15 % level. 3) Moisture 50 % ; Crude protein 42.3 % on dry basis. 4) Single comb white Leghorn.

試験開始後2ケ月間はアラ液化物区の産卵率は魚粉区のそれと殆んと差がなかったが，以後2ケ月間はアラ液化物区の産卵率が魚粉区より大であった。

これらの試験では，アラ液化物区に添加した蛋白量は魚粉区のそれより少かったに拘らず，産卵効果が優っているのは明かに APF の多量の供給によるものと考えられる。

2. 生魚屑との比較

アラ液化物の産卵効果とアラ液化物の原料である生魚屑の効果との比較試験の結果は Table 2 に示す通りで，試験（C）の場合，全試験期間を通じて常にアラ液化物区の産卵率は生魚屑区のそれを凌駕した。

Table 2. The effect of supplementation of solubilized trimmings on egg production as compared with that of fresh trimmings.

	Supplements	No. of hen	Rate of egg production						Average rate of egg production
			Feb. '53	March	April	May	June	July	
C[1)]	Solubilized trimmings 2.5 % +Fresh trimmings 10 %	80	——	75.6	73.1	68.1	——	——	72.2
	Fresh trimmings 15 %	88	——	71.9	69.8	62.4	——	——	68.0
D[2)]	Solubilized trimmings 2.5 % +Fresh trimmings 10 %	100	36.7	42.1	76.3	77.4	66.7	53.9	58.8
	Fresh trimmings 15 %	100	38.6	39.6	70.1	72.8	62.2	50.8	55.7

1) Basal diet used was composed, in per cent, of corn 20, wheat 20, barley 10, wheat bran 20, rice bran 20, rice hull 10. The group of hen was composed of Rhode 20, Prymouth Rock 45, and New Hamp- shire 15 or 23. 2) Basal diet used was composed, in per cent, of corn 25, wheat 10, barley 10, ground wheat 10, wheat bran 15, rice bran 20, barley bran 10. The green leaves were added at a 30 per cent level. Single comb white Leghorn was used.

試験（D）の場合は，試験開始直後の産卵率では生魚屑 15 % 区がアラ液化物 2.5 %+生魚屑 10 % 区より優れていたが，以後はアラ液化物 2.5 %+生魚屑区 10 % 区の産卵率が生魚屑のみの対照区のそれを凌駕した。

3. 大豆粕との比較

産卵成績は Table 3 に示す通りで，全試験期間の産卵率はアラ液化物 2.5 % 区と基本区との間には差が認められなかった。月別の産卵率を詳細にみると，試験を開始してから5ケ月間は基本区が僅かに優れていたが，所謂生み疲れの時期（7月～9月）はアラ液化物区の産卵率が基本区のそれより高いことが注意される。

Table 3. The effect of supplemenntation of solubilized trimmings on monthly egg production.

Supplements	No. of hen[2)]	Monthly rate of egg production									Average rate of egg production
		Feb. '53	Mar.	Apr.	May	June	July	Aug.	Sep.	Oct.	
Solubilized trimmings 2.5 %	100	77.5	83.5	78.9	75.2	70.3	77.5	67.0	63.9	41.9	70.6
None[1)]	100	76.0	80.1	81.5	78.8	71.7	70.8	65.5	59.5	42.4	69.5

1) To equalize the protein-content, soybean at a level of 4 per cent of the ration was added.
2) Single comb white Leghorn.
The basal diet used was a commercial ration A. The green leaves were added at a 40 per cent level.

Ⅳ 総　　括

一般の飼養管理法で飼育した2～3年鶏の産卵に及ぼすアラ液化物の効果について検討し，次の結果を得た。

1. 乾物として 5% のアラ液化物を添加した飼料で白レグの2年鶏を 1953年2月から 3～4 ケ月間飼養管理したところ，10% の魚粉を添加した飼料で飼育した場合に比し，時日の経過につれて産卵率は大となつた。

2. アラ液化物とアラ液化物の原料である生魚屑との効果について比較した。乾物として 2.5% のアラ液化物と生魚屑 10% を植物性飼料に混じて与えたものの産卵率は，生魚屑 15% を与えたもののそれより常に優れていた。

3. 乾物として 2.5% のアラ液化物を 9ケ月間与えたところ，基本飼料のみを与えたものより生み疲れの時期に多少優れた結果を示した。

本研究は昭和28年度の文部省科学試験研究費で行った。研究に協力された深見泰雄，楠原正徳、花岡潔，大庭正利，中西重雄の諸氏に深謝の意を表す。

文　　献

1) 富山哲夫・米康夫・広渡一之・原田悠三・小柳武夫・内田正五郎・徳田寿男：本誌，21，941 (1955).
2) 富山哲夫・米康夫・広渡一之・小柳武夫・内田正五郎・徳田寿男：本誌，21，1086 (1956).
3) 富山哲夫・米康夫・広渡一之・小柳武夫・内田正五郎・徳田寿男：本誌，21，1090 (1956).

魚体カタラーゼの研究—V. 魚肝カタラーゼの至適水素イオン濃度について

福田博業・樋口俊昭・黒木暘
（宮崎大学農学部水産化学教室）

Studies on the Fish-Liver Catalase—V. Optimum pH of the Fish-Liver Catalase

Hironari FUKUDA, Toshiaki HIGUCHI and Akira KUROGI

Catalase activities are determined on the liver extracts of the various species of teleost, and optimum pH of each species are shown graphycally. Optimum pH of liver catalase of the many saline water fishes are found to be 6.9–7.2, but of the several fresh water fishes are found at low optimum pH, 6.1–6.2. These low values of opt. pH seem to be characteristic of the fresh water fishes.

緒言

最近高木[1]は多種類の海藻についてカタラーゼの至適 pH 価を測定し，7.1～8.3 の比較的に高い値を得ている。しかも，各々の海藻によつて可なり著しい差異を示す至適 pH が主として環境海水の pH 価とほぼ一致すると述べている。温血動物の肝カタラーゼの至適 pH 価は，一般に 6.8 とせられている。魚類カタラーゼの至適 pH 価については報告が見当らない。

著者らは，魚肝抽出液についてカタラーゼ作用の至適 pH 価を測定し，海産魚類と淡水魚類との間に差異を認めたので報告する。

実験方法

1. 酵素液の調製 死直後或は成るたけ新鮮な魚肝の一定量 5～10 g に小量の水を加え，氷冷しながら約5分間ホモヂナイズする。蒸溜水をもつてこれを一定容量に満してから遠心分離し，その上清を原酵素液（*n* 倍抽出）とする。使用に際して，この原酵素液を *d* 倍に稀釈してその作用力を測定する。

2. カタラーゼ作用力の測定 前報[2]と同様，EULER & JOSEPHSON 法に従い $KMnO_4$ 滴定法を用いた。但し，反応温度は常に 0°，作用時間は 10 分間とし，その間2分毎に 5 ml づつをピペットして残存する H_2O_2 を滴定し，一次反応式に従つて速度恒数 k_t を算出した。各測定時間 t における kt の値をグラフ上に外挿して k_0 を求め，この値に稀釈度 *d* を乗じて原酵素液に対応する作用力として表した。

3. 至適 pH 価の測定 調製した原酵素液をその作用力の強さに応じて適当に稀釈（*d* 倍）した酵素液 1 ml づつを pH を異にする M/15 燐酸緩衝液 50 ml 中に加え，以下作用力測定の条件に従つて 0° における反応速度恒数 k_t を求めた。種々の pH 値において得られた（$k_t \times d$）の値から，グラフ上に至適 pH 価を求めた。

実験結果と考察

硬骨魚類の肝抽出液について測定した結果のうち，代表的な数例について pH 価とカタラーゼ作用力の関係を図示すると，Fig. 1 が得られる。図の曲線において，作用力が最高を示すときの pH 価を至適 pH 価と認めた。

1955 年6月 24 日受理

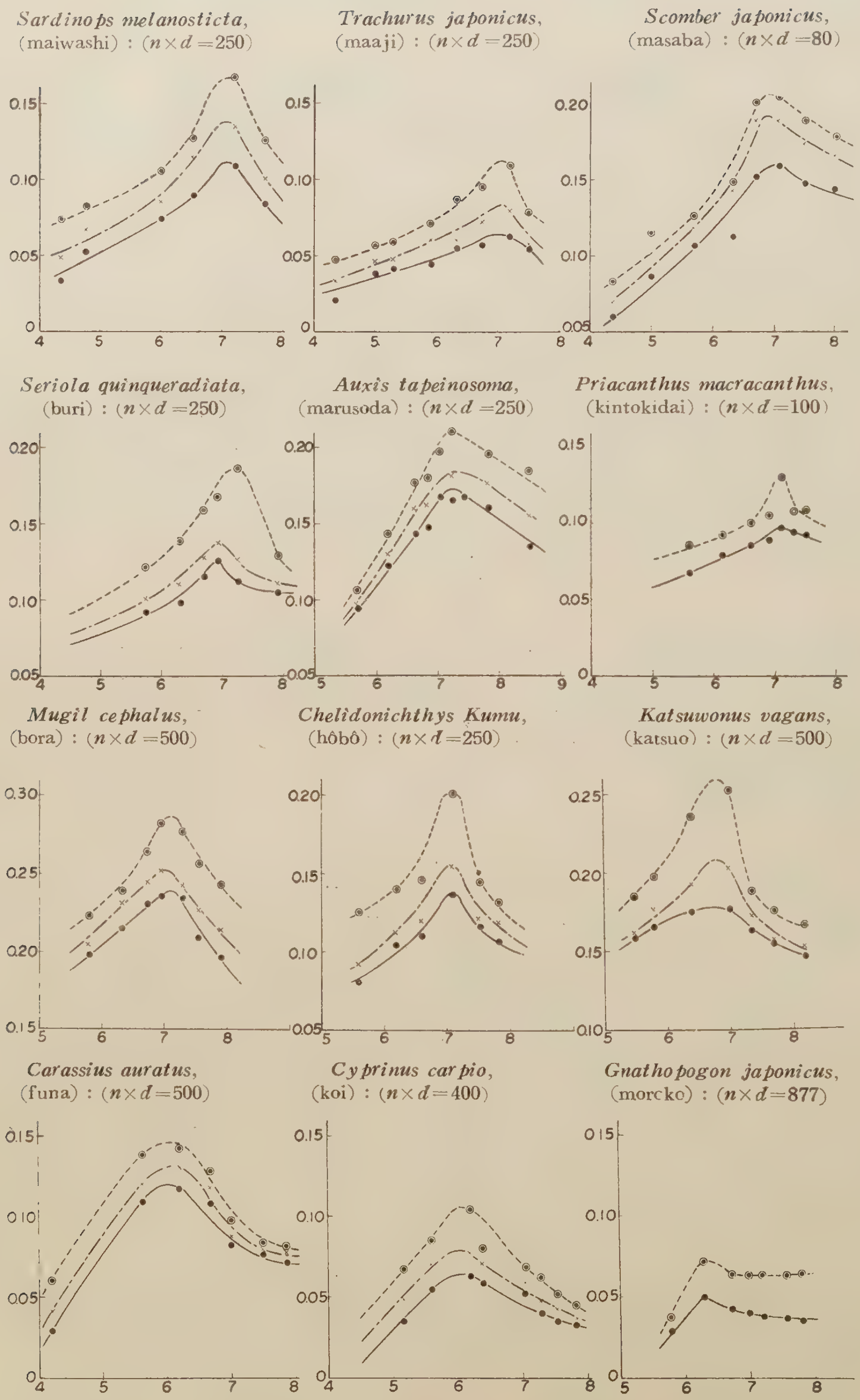

Sardinops melanosticta,
(maiwashi) : (n×d=250)
Trachurus japonicus,
(maaji) : (n×d=250)
Scomber japonicus,
(masaba) : (n×d=80)
Seriola quinqueradiata,
(buri) : (n×d=250)
Auxis tapeinosoma,
(marusoda) : (n×d=250)
Priacanthus macracanthus,
(kintokidai) : (n×d=100)
Mugil cephalus,
(bora) : (n×d=500)
Chelidonichthys Kumu,
(hôbô) : (n×d=250)
Katsuwonus vagans,
(katsuo) : (n×d=500)
Carassius auratus,
(funa) : (n×d=500)
Cyprinus carpio,
(koi) : (n×d=400)
Gnathopogon japonicus,
(morcko) : (n×d=877)

Fig. 1. Catalase activity in fish liver extracts at various pH of phosphate buffer.
n…folds of extraction, d…folds of dilution, abscissa…pH, ordinate…velocity constant, reaction time t…2, 4, 6, 8, 10 min.,
………… t=2 min., —•—•— t=4 min., —— t=10 min.

Fig. 1の結果から得られる魚肝カタラーゼの至適 pH 価を一括して Table 1に表示する。

Table 1. Optimum pH of catalase in the fish-liver extracts.

Species of fishes	Range of determined opt. pH	Mean value
Sardinops melanosticta "maiwashi"	7.1—7.2	7.1
Trachurus japonicus "maaji"	7.0—7.2	7.1
Scomber japonicus "masaba"	6.9—7.1	7.0
Seriola quinqueradiata "buri"	6.9—7.2	7.0
Auxis tapeinosoma "marusoda"	7.2	7.2
Katsuwonus vagans "katsuo"	6.8	6.8
Priacanthus macracanthus "kintokidai"	7.1	7.1
Chelidonichthys kumu "hōbō"	7.1	7.1
Mugil cephalus "bora"	7.1	7.1
Carassius auratus "funa"	6.0—6.2	6.2
Cyprinus carpio "koi"	6.0—6.2	6.1
Gnathopogon japonicus "moroko"	6.3	6.3

Table 1に示した値は、同一魚種について1乃至数個体の測定結果であるが，大体において一致した至適 pH 価を与えているものと認められる。

以上の結果についてみるに、海産硬骨魚類では 7.2〜6.8 の値を示し，大部分の魚種が 7.0〜7.2 を示している。この値は温血動物における 6.8 よりもやや高い値である。

他方、淡水魚類のそれは 6.1〜6.3 で著しく低い値を示している。但し淡水魚類についての測定例は少く，果して淡水魚が例外なくこの様な低い至適 pH 価を示すものであるかどうかは断定をはばかるけれども，おそらくは海産魚と淡水魚との生存する環境水の pH 価によって影響された生理的適応のためではないかと推定せられる。同様のことを先に高木[1]は海藻カタラーゼの至適 pH について，各種の海藻カタラーゼ固有の至適 pH 価は環境水の pH 価とほぼ一致すると述べている。魚肝カタラーゼが純粋に分離せられていない現在、肝抽出液における見掛けのカタラーゼ作用力を以って至適 pH 価を断定することは危険であるかも知れないが，著者等が予めアセトン処理を行って大部分の不純蛋白質を除去した二，三の酵素液（Kat. f. = 1,000〜2,000）についてカタラーゼ作用の至適 pH 価を測定した結果は，肝抽出液そのものについて測定した結果と一致した値を与えたから，上に示した至適 pH 価は魚種によって固有の値であると断定してよいと考える。なお，この点については今後魚肝カタラーゼが純粋に得られた場合に精査するつもりであるが，最近これに似た事実として，満田ら[3),4)]が牛肝臓，ガマ肝臓，ホウレンソウ及びイネの緑葉中に含まれるカタラーゼの至適温度の測定において，酵素液の純度に関係なく，種類によって固有の値を示すことを認めている。

要　　約

1. 硬骨魚類の肝抽出液について，カタラーゼ作用の至適 pH 価を測定した。
2. 海産魚類について 6.8〜7.2，淡水魚類について 6.0〜6.3 の範囲に至適 pH 価を認めた。

文　　献

1) 高木光造： 日水会誌，**19**，798 (1953).
2) 福田博業： 日水会誌，**20**，512 (1954).
3) H. Mitsuda and Yasumatsu : *Bull. Agr. Chem. Soc. Japan*, **19**, 200 (1955).
4) H. Mitsuda and Yasumatsu : *Bull. Agr. Chem. Soc. Japan*, **19**, 208 (1955).

速　報

メバチマグロ刺身によるアレルギー様食中毒とその原因細菌

河端俊治・石坂公成・三浦利之・佐々木忠尚
(国立予防衛生研究所)

An Outbreak of Allergy-like Food Poisoning Caused by "Sashimi" (Sliced Raw Fish Flesh) and the Isolation of Responsible Bacterium, *Proteus morganii*.

Toshiharu KAWABATA, Kimishige ISHIZAKA, Toshiyuki MIURA and Tadanao SASAKI

筆者らは数例のアレルギー様食中毒の検体には多量のヒスタミンが含まれているほかヒスタミン様の生理作用を有する未知塩基性物質の存在をペーパークロマトグラフで明かにすることができ，サウリンと名付けた。この物質は生理学的性状からみて一種の自律神経毒であつてヒスタミンと共にこの種中毒の主要な原因物質であると考えられる。しかし中毒発生時に入手し得る検体の数量は通常極く少量で，それより原因物質を単離精製することは極めて難しい。そこでこれら有毒物質を生成する微生物を追求することはこの種研究の重要な鍵となつてくる。筆者らは昭和 30 年6月 18 日埼玉県比企郡小川町に発生したメバチ (*Parathunnus mebachi*) 刺身によるアレルギー様食中毒の研究を行つたが，従来の例と同様外観は殆んど正常，NH_3-N, Me_3N-N 含量，pH 値でも良品と区別出来ないにもかゝわらず著量のヒスタミンのほかサウリンの存在をペーパークロマトグラフで確認することが出来た。今回とくに中毒原因物質生成菌の検出に主力をおいて実験を進めた。先ず検体の細砕懸濁液を平板培地に均等塗布して 78 株の菌を得，それについて検索を行つたところ，ヒスタミン形成菌及びサバエキス培養地のモルモット腸管収縮能陽性菌株は共通した 11 株であつて，何れも *Proteus* 菌群に属することが判つた。さらにそれ等 11 株の生物学的，生理学的諸性状を詳細に調べたところ *P. vulgaris* (5 株)，*P. mirabilis* (3 株)，*P. morganii* (3 株) に一致した。次いでヒスタミン，サウリンの形成能をメバチ肉で作つたエキス培地で調べたが，著量のヒスタミン形成能を有するのは *P. morganii* であり，この菌は同時にサウリンも産生する。他の2種の *Proteus* 菌は微量のヒスタミンのみを形成するにすぎなかつた。

次に有毒物質形成能のある *P. morganii* が増殖したら食品の腐敗の様相がどのように変化するかを知り，さらにこの菌のアレルギー様食中毒の原因菌としての意義を検討する目的で，市販メバチ肉を無菌的に磨砕し，2つに分けて三角フラスコ中にいれ，一方に *P. morganii* の一株を接種し他方はそのまゝの状態で，共に 25°C で 40 時間放置したところ，対照は明かに腐敗に達し，NH_3-N は 60 mg %，腐敗臭も強く感じられた。しかし接種肉は殆んど臭気，外観に変化がなく NH_3-N も培養前に較べて全く増加を示さなかつた。(17 mg %)

さらに注目されたのは対照肉のヒスタミン形成は僅少であつたのに，接種肉は 165 mg % に達し全迷走神経刺戟物量（ヒスタミンの相当値で示す）は 400 mg % にもおよび，同時にサウリンの存在も確認することができた。このように或る特定の菌が増殖し著量の有毒物質の蓄積をみながらその食品の外観，臭気に殆んど変化を与えないという事実は食品の腐敗と中毒の関係を解く上に重要な鍵を与えるものと考えられ，*P. morganii* がアレルギー様食中毒の原因物質生成菌として主要な位置を示めるものといえよう。詳細は“水産食品の腐敗中毒に関する研究—Ⅶ”に報告する。

本研究にに種々御教示，御鞭達を賜った予研遠山祐三部長，中村敬三部長，東京大学森高次郎教授，東海区水研天野慶之博士，京都大学木俣正夫教授に厚く御礼申し上げる。

1955 年1月 24 日受理 (印刷費負担)

雑　　録

○理事会　昭和 31 年 2 月 10 日於東海区水研

普通会員 15 名，団体会員 1 団体の入会を承認。年会の準備その他の報告があつた。

○受　理

881.　1955. 7. 25　中村武彦　キリンサイ粘質物に関する研究—II
882.　1955. 7. 25　〃　〃　—III
883.　1955. 7. 25　丸一禎蔵・島津禎彦・日野佳明　乾燥中における魚肉温度の変化について —II
884.　1955. 7. 28　佐伯誠道・森　高次郎　鯨油の研究—XII
885.　1955. 7. 28　朴　龍俊　棒受網の模型実験—I
886.　1955. 7. 28　北御門　学　ビタミンKの抗菌作用機構—III
887.　1955. 7. 30　富山哲夫・米　康夫・広渡一之　煉製品製造残率の利用に関する研究 —IV
888.　1955. 8. 1　T. KAWAKAMI　On the prediction of Fishery based on the Variation of Stock—II
889.　1955. 8. 9　柏田研一　カツオの生化学的研究—VIII
890.　1955. 8. 9　〃　〃　—IX
（以上第 21 巻第 10 号　昭和 31 年 2 月頃掲載予定）
891.　1995. 8. 11　河端俊治・石坂公成・三浦利之　水産食品の腐敗中毒に関する研究—IV
893.　1955. 5. 11　〃　〃　〃　〃　—V
893.　1955. 8. 11　〃　〃　〃　〃　—VI
894.　1955. 8. 11　松平近義・岩崎英雄・津田　勉　潮境に於ける水産資源の定量生態学的研究 —I
895.　1955. 8. 11　〃　〃　〃　〃　—II
896.　1955. 8. 12　富山哲夫　貝類廃棄部の利用に関する研究—IV
897.　1955. 8. 16　松浦文雄・橋本周久　魚類の血液ヘモグロビンに関する研究—I
898.　1955. 8. 18　藤田惣吉　各種肥料がミジンコの繁殖に及ぼす影響についての実験—III
899.　1955. 8. 18　〃　〃　—IV
001.　1955. 8. 29　鴻巣章二・香取進一・江口貞也・森高次郎　魚類肉蛋白のアミノ酸組成について
002.　1955. 9. 1　児島俊平　隠岐島周辺におけるスルメイカの漁況学的研究—II
003.　1955. 9. 8　谷口武夫　水中に於ける各種嚢網の抵抗について—III
（004. は欠）　（以上第 21 巻第 11 号　昭和 31 年 3 月頃掲載予定）
005.　1955. 9. 16　竹内卓三・松原孝之・広川泰子・築山明
　広島湾産マガキの異常斃死に関する細菌学的研究
006.　1955. 9. 22　岡田彌一郎・窪田三朗　チチブの塩分適応能力について—I
007.　1955. 9. 26　向井克憲　鯨油色素に関する研究—XI
008.　1955. 9. 26　〃　〃　—XII
009.　1955. 9. 26　岩井英次　Cranchüdae に属するイカ類の一稀種について
010.　1955. 9. 20　富山哲夫　魚体の液化に関する生化学的研究—III
011.　1955. 10. 5　小俣　靖・森　高次郎・橋本芳郎
　水産製造並びに貯蔵中に於けるビタミンB群の変化—I
012.　1955. 10. 5　森　高次郎・橋本芳郎・小俣　靖　魚肉のビタミンB群含量
013.　1955. 10. 6　児島俊平　水面の影並びに浮游物に対する魚の行動
014.　1955. 10. 10　三宅正人・堀口吉重・村孝市郎　煉製品に関する研究—I
（以上第 21 巻第 12 号　昭和 31 年 4 月頃掲載予定）
015.　1955. 10. 12　野中順三九　魚油の油焼に関する研究—XI
016.　1955. 10. 18　〃　〃　—XII

017. 1955.10.18 野中順三九 魚油の油焼に関する研究—XIII
018. 1955.10.31 藤沢浩明・助川輝久 暖冬期に於ける寒天の変敗防止に関する研究—I
019. 1955.11. 4 朴 龍俊 若狭湾田井定置網漁場のマイワシ漁況と気象要因との関係
020. 1955.11. 7 H. MAÉDA Statistical anlyses of the influences of
various lights upon the distribution of fishes in aquarum—II
021. 1955.11. 7 〃 〃 〃 —III
022. 1955.11. 9 小島良夫 アルギン酸の電解精製に関する研究—I
023. 1955.11. 9 〃 〃 —II
024. 1955.11.11 竹内卓三 他 アサクサノリ糸状体の生体—III
(第 22 巻第 1 号 昭和 31 年 5 月頃掲載予定)
025. 1955.11.22 片山輝久 海藻の揮発成分に関する生化学的研究—VIII
026. 1955.11.22 〃 〃 —X
027. 1955.11.22 〃 〃 —XI
028. 1955.11.22 〃 〃 —XII
029. 1955.11.17 T. IWAI Anatomy of the phangeal pockets of the
Japanese gizzarh shad, *Konosirus punctatus*
030. 1955.11.24 小島良夫 アルギン酸の電解精製に関する研究—III
031. 1955.11.24 〃 〃 —IV
032. 1955.11.29 横関源延・内山 均・天野慶之 ねり製品の保蔵に関する研究—IV
033. 1955.12. 5 三宅正人・林 孝市郎 煉製品に関する研究—II
034. 1955.12.16 T. IWAI Development of the comb-like teeth
in a salmoncis firk, *Plecoglosous altivelis* T. *et* S.
(以上第22巻第2号 昭和 31 年6月頃掲載予定)
035. 1955.12.26 齊藤雄之助 「アサクサノリ糸状体の生長成熟に及ぼす二，三の要因の影響について」
036. 1956. 1.24 河端俊治・石坂公成・三浦利之・佐々木忠尚
水産食品の腐敗中毒に関する研究—VIII
037. 1956. 1.28 松平近義・岩崎泰雄・津田 勉 潮境に於ける水産資源の定量生態学的研究 -III
038. 1956. 1.30 Y. ENOMOTO On the occurrence and the food of of *noctiluca S.* (M.)
in the waters adjancent to the west coast of Kyushu,.
039. 1956. 1.31 石井一美・井上元男 珠瑚海のビンナガ鮪の卵巣に関する二，三について
(以下 印刷費負担速報扱)
933. 1955. 7.22 土井長之 瀬戸内海におけるタイ資源について
934. 1955. 8.16 須田 明 北部太平洋で漁獲される北上期ビンナガの体長組成
935. 1955. 8.23 田中昌一 産卵総量の推定—I
936. 1955. 8.23 〃 〃 —II
937. 1955. 8.24 宮本秀明・野村正恒・塩田衛二・野沢 靖
定置網の網地の使用中に起る抗張力の減退と使用限界張力に関する研究
938. 1955. 9. 6 内山 均・天野慶之・横関源延 ねり製品の保蔵の研究—III
939. 1955. 9. 9 東 秀雄・金子徳五郎・杉井麒三郎 深海鮫類肝油の利用に関する研究—XI
940. 1955. 9.15 平尾秀一・山田充阿彌・菊地 嶺 魚肉のビタミンAに関する研究—IV
941. 1955. 9.16 山下秀夫 九州西海域のマイワシの生長と食餌の関係
942. 1955.10.28 平尾秀一・山田充阿彌・菊地 嶺 魚肉のビタミンAに関する研究—V
943. 1955.10.28 富山哲夫・黒木俊一・野村 稔 オーレオマイシンによるサバの鮮度の保持
944. 1955.11. 9 本間義治 マグロの甲状線について

945. 1955.11. 6 本間義治 バショウカジキの甲状線について
946. 1955.11. 6 〃 ブリ属の甲状線について
947. 1955.11.24 村上子郎・早野孝教 本邦近海産サバの背部担鰭骨数について
488. 1955.12. 2 中村中六・笠原正五郎 トビゴイに関する研究—II
949. 1955.12.26 土井長之 水産資源の力学的取扱—I
950. 1956. 1.21 斎藤雄之助 海中でのアサクサノリ糸状体から胞子放出について（予報）
951. 1956. 1.24 河端俊治・佐々木忠尙・石坂公成・三浦利之
水産食品の腐敗中毒に関する研究—VII
952. 1956. 1.28 山中 一 西南太平洋 10°S 附近の鉛直海洋構造とビンナガ漁況
953. 1956. 1.30 野村正恒・森 敬四郎 水中を動く網地がうける水の抵抗—III
954. 1955. 1.30 〃 〃 —IV
955. 1956. 2. 2 須田 明 ビンナガの研究—III

○ 訂正 (ERRATA)

第 21 巻 第7号

頁	行	誤	正
483	上から 5 (表題)	"Ped Disease"	"Red Disease"
484	下から15	虫な.	大きな.
〃	下から10	寺内	堀内
〃	下から 9	(S字曲線) を示すが	(S字曲線を示す) が
裏表紙 (CONTENTS)	上から14	"Ped Disease"	"Red Disease"

第 21 巻第8号, 918 頁, Table 2.

誤

Good	1909	'11	'15	'21	'21	'29

正

Good	1909	'11	'15	'21	'26	'39

日本水産学会新着図書案内（通し番号 No. 21）

Acta Zool. Fenn., 82—86.
Amer. Mus. Novitates, nos. 1655, 1688.
Arch. Néeerland. Zool., xi, nos. 1, 2.
Anstr. J. Mar. Freshw. Research., vi, nos. 2, 3.
Bamidgeh (Monthly Bull. Fish Culture in Israel), vi, nos. 2, 3; vii, nos. 1, 2.
Bibliogr. Oceanographica, xvii.
Bol. Inst. Espan. Oceanogr., nos. 65—68.
Bol. Inst. Oceanográfico, iii, nos. 1/2; iv, nos. 1/2, Brazil.
Bull. Amer. Mus. Nat. Hist., ciii, art. 5 and cvi, art 4, 5.
Bull. Porit. Mus., ii, nos. 12, 13; iii, nos. 1—4.
Bull. Inst. Internat. Froid, xxxv, no. 2.
Bull. Scripps Inst. Oceanogr., vi, no. 7.
Fishery Investigations, ser. 1, v, no. 8; ser. 2, vol. xviii, nos. 8, 9.
Fishing Industry Research Inst. Seventh Ann. Rept. Apr. 1, 1953—March 31, '54. (S. Afr.)
〃 Progress Rep. nos. 18, 19.
〃 Eight Annual Rept. Apr. 1, 1954—March 31, '55.
Food Investigation, 1954.
Food Sci. Abstr., xxvii, nos. 1, 2, 3, 4, 5. Index to vol. xxv and xxvi.
Hvalrådets Skrifter, No. 40.
International N. Pacific Fisheries Commission. Rep. 1st Ann. Meeting; Bull. no. 1.
International Pacific Salmon Fisheries Commission. Ann. Rep. 1954.
Investigational Rep. nos. 17, 18. (Union of S. Afr. Dept. Comm. Industry, Div. Fish)
Jour. Fish. Res. Board Canada, xii, nos. 3, 4, 5, 6.
科学彙報, ii, nos. 4, 5, 6; iii, nos. 1, 2, 4, 5.
Ministerie van Landbow. Visserij en Voedelvoorzining: Jaarcijfers 1954. (Netherlands).
Pacific Science, ix, nos. 2, 3, 4.
Publ. Inst. Nacional de la Nutricion. Año 1954, CNP. 34.
Rept. Intern. Pacific Halibut Comm., no. 22.
Revue des Trvaux de l'Institut des Peches Maritimes, xix, nos. 1, 3.
Roczniki Nauk Rolniczych, xvii—B—4, viii—B—4, xix.
Scotish Home Dept. Freshwater & Salmon Fisher. Res., 7, 8.
〃 Marine Research, 1955, nos. 1, 2.
Studies 1954 from the stations of the Fisheries Research Board of Canada.
Tidsskrift for Hermetikindustri, xli, nos. 5—11.
Tulane Studies in Zoology, ii, no. 8; iii, nos. 1—4.
Union of S. Afr. Div. Fish. Investigational Rep., no. 19.
Universitetet; Bergen Årbok, 1955, no. 2.
University of Washington, School of Fisheries. Contribution, no. 7, no. 10.
World Fishes Abstracts, vi, nos. 2, 3, 5.
Word Fishing, iv, nos. 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11.

日本水産学会新着図書案内（通し番号 No. 22）

Anales del Instituto de Biologia, xxvi, no. 1. (Mexico)

Ann. Mus. Roy. Congo Belge (Tervuren), sci. zool. xxxv. Ark. f. zool., vii nos. 4, 5.

Ark. f. Zool., vii, no. 6, viii, nos. 1/2, 3/4/5.

Buch, H. & Cross, F. 1952. Early limnoological and fish population conditions of Canton Reservoir, Oklahama, and fishery management recommendativus. 6+110 pp.

Commercial Fisheries Review, xvii, nos. 5—10.

Deedler, C. L. 1954. Factors affecting the migration of the silver eel in Dutch Inland waters.

FAO Fisheries Bull., viii, no. 2.

Fish Bull, State of Calif., nos. 99—101.

Fisheries Research Board of Canada. Bull. no. 102.

〃 Annual Rept. 1954.

〃 Progress Rep. Atlantic Coast Stations, nos. 61, 62.

〃 Circular, General Series, no. 26.

Il giornale della pesca, v, nos. 8—20.

Inter-American Tropical Tuna Comm. Bull. nos. 3, 4.

J. Mar. Biol. Assoc., xxxiv, nos. 2, 3.

Kieler Meeresforschungen, Bd. xi, no. 1.

Loomis, R. H. & Irwin, W. H. 1954. A report of a study designed to determine the depth distribution of fishes in relation to vertical temperature. Research Foundation Report no. 5, 6, Oklahama Agricultural and Mechanical College, Stillwater, Oklahama.

Mem. Soc. Faun. Flor. Fenn., xxx.

Scotish Home Dept. Report on fisheries of Scotland, 1954.

〃 Scotish Sea Fisheries Statistical Tables, 1954.

〃 Marine Research, 1955, No. 3.

Senckenbergiana Biologica, xxxvi, nos. 1/2, 3/4.

水試月報（台湾省水試） iii, nos. 1—7.

Visserij-Neuws, viii, no. 1.

昭和三十一年二月二十日　印刷
昭和三十一年二月二十五日　発行

第二十一巻　第十号

本号定価 120 円
(送料別)

編集兼発行者　右田正男
東京都中央区月島三号地東海区水産研究所内

発行所　日本水産学会
東京都中央区月島三号地東海区水産研究所内
振替口座　東京　59529番

印刷者　加藤松次

印刷所　株式会社　東海書房

発売所　株式会社　東海書房
東京都中野区江古田3の1223
電話 中野 (38) 4101